

# **Natürliche Enantioselektivität und Isotopendiskriminierung – Schlüssel zur Echtheit ätherischer Öle**

DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich  
Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
in Frankfurt am Main

von  
**Stefanie Bilke**  
aus Recklinghausen

Frankfurt am Main 2002

vom Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften der Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. W. E. Müller

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Mosandl

2. Gutachter: Prof. Dr. M. Karas

Datum der Disputation: 29. Mai 2002

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 1999 bis Februar 2002 am Institut für Lebensmittelchemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt angefertigt.

Ich bedanke mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Armin Mosandl für die interessante Themenstellung sowie für den notwendigen Freiraum und die zahlreichen Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit maßgeblich beigetragen haben.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Sven Asche, der mich zu Beginn meiner Arbeit mit der Isotopenmassenspektrometrie bei allen auftretenden Problemen unterstützt hat.

Weiterhin danke ich Frau Annette Scharrer für die Unterstützung und die Theorien bei den unzähligen Problemen in der Isotopenmassenspektrometrie.

Herrn Andreas Münch und Herrn Renald Gleß sowie Herrn Frank Dettmar danke ich für die Bewältigung vieler technischer Probleme.

Für die Lösung jeglicher Computerprobleme sowie für die Durchsicht des Manuskriptes danke ich Herrn Panagiotis Steliopoulos.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dirk Burkhardt für die „Beaufsichtigung“ der IRMS über Weihnachten 2001.

An dieser Stelle möchte ich auch allen Mitgliedern des Arbeitskreises für die gute Zusammenarbeit danken.

Herrn Dr. Dieter Juchelka, Herrn Hairigh Avak und Herrn Peter Haubold der Firma ThermoFinniganMAT, Bremen, danke ich für die Hilfe bei vielen technischen und analytischen Problemstellungen in der Isotopenmassenspektrometrie.

Den Mitarbeitern der Kaders GmbH danke ich dafür, dass mir von Ihnen Proben verschiedener ätherischer Öle und Substanzen zur Verfügung gestellt wurden.

Patrick danke ich für sein Interesse, jede mögliche Unterstützung und unendliche Geduld.

Nicht zuletzt danke ich Margit, Papa, Nadja, Oma und Opa für die „seelische Unterstützung“ bei allen IRMS- und sonstigen Problemen, während des Studiums und der Promotion.

# Inhaltsverzeichnis

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b>EINLEITUNG .....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>1.1</b> | <b>Authentizität ätherischer Öle .....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1.1      | Ätherische Öle .....  | 1         |
| 1.1.2      | Methoden zur Authentizitätsbewertung .....  | 2         |
| 1.1.2.1    | Allgemeines .....   | 2         |
| 1.1.2.2    | Enantioselektive Analytik .....   | 2         |
| 1.1.2.3    | Methoden zur Bestimmung von Isotopenverhältnissen .....   | 4         |
| 1.1.2.3.1  | Isotopendiskriminierung .....   | 4         |
| 1.1.2.3.2  | Site-specific Natural Isotope Fractionation-NMR (SNIF-NMR) .....  | 8         |
| 1.1.2.3.3  | Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) .....  | 8         |
| <b>1.2</b> | <b>Aufgabenstellung .....</b>   | <b>15</b> |
| <b>2</b>   | <b>ALLGEMEINER TEIL .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Bestimmung von <math>^2\text{H}/^1\text{H}</math>-Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS .....</b>                        | <b>16</b> |
| 2.1.1      | Möglichkeiten der Kalibrierung .....  | 16        |
| 2.1.2      | Kalibrierungsstrategien .....   | 17        |
| 2.1.3      | Vergleich der über TC/EA-IRMS und GC-P-IRMS bestimmten<br>Isotopenverhältnisse .....  | 18        |
| 2.1.4      | Einfluss von GC-Bedingungen auf die Bestimmung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -<br>Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS ..... | 20        |
| 2.1.5      | Geeignete Bedingungen zur Messung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen<br>mittels GC-P-IRMS .....               | 22        |
| <b>2.2</b> | <b>Authentizität von Lavendelölen, Lavandinölen und Spikölen .....</b>  | <b>24</b> |
| 2.2.1      | Einleitung .....  | 24        |
| 2.2.2      | Identifizierung und Quantifizierung der Inhaltsstoffe .....   | 26        |
| 2.2.3      | Enantioselektive Analyse von Linalool und Linalylacetat mittels enantio-<br>MDGC-MS .....                                     | 30        |
| 2.2.4      | Isotopenmassenspektrometrische Analyse .....  | 32        |
| 2.2.4.1    | Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Linalool und<br>Linalylacetat mittels GC-C-IRMS .....  | 32        |
| 2.2.4.2    | Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Linalool und<br>Linalylacetat mittels GC-P-IRMS .....        | 36        |
| <b>2.3</b> | <b>Authentizität von Anis- und Fenchelölen .....</b>  | <b>43</b> |
| 2.3.1      | Einleitung .....  | 43        |
| 2.3.2      | Identifizierung und Quantifizierung der Inhaltsstoffe .....   | 45        |
| 2.3.3      | Enantioselektive Analyse der chiralen Komponenten des Fenchelöls<br>mittels enantio-MDGC-MS .....                             | 47        |

---

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 2.3.4      | Isotopenmassenspektrometrische Analyse.....   | 49        |
| 2.3.4.1    | Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von <i>trans</i> -Anethol<br>mittels GC-C-IRMS.....                | 49        |
| 2.3.4.2    | Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von <i>trans</i> -Anethol<br>mittels GC-P-IRMS.....                      | 50        |
| 2.3.4.3    | Korrelation der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von <i>trans</i> -<br>Anethol ..... | 53        |
| <b>2.4</b> | <b>Authentizität von Kümmelölen .....</b>   | <b>55</b> |
| 2.4.1      | Einleitung.....   | 55        |
| 2.4.2      | Quantifizierung der Hauptkomponenten von Kümmelölen.....  | 56        |
| 2.4.3      | Enantioselektive Analyse von Limonen und Carvon mittels enantio-<br>MDGC-MS .....   | 57        |
| 2.4.4      | Isotopenmassenspektrometrische Analyse.....   | 59        |
| 2.4.4.1    | Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und<br>Carvon mittels GC-C-IRMS .....                  | 59        |
| 2.4.4.2    | Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und<br>Carvon mittels GC-P-IRMS.....                         | 61        |
| <b>3</b>   | <b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>   | <b>66</b> |
| <b>4</b>   | <b>SUMMARY .....</b>  | <b>68</b> |
| <b>5</b>   | <b>EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>   | <b>70</b> |
| <b>5.1</b> | <b>Bestimmung von <math>^2\text{H}/^1\text{H}</math>-Isotopenverhältnissen mittels TC/EA- und<br/>GC-IRMS .....</b>                   | <b>70</b> |
| 5.1.1      | Materialien .....   | 70        |
| 5.1.2      | TC/EA-IRMS Analyse .....  | 71        |
| 5.1.3      | GC-P-IRMS Analyse .....   | 73        |
| <b>5.2</b> | <b>Authentizität von Lavendel-, Lavandin- und Spikölen.....</b>   | <b>77</b> |
| 5.2.1      | Materialien .....   | 77        |
| 5.2.2      | Probenaufarbeitung .....  | 79        |
| 5.2.3      | GC-MS Analyse .....   | 79        |
| 5.2.4      | enantio-MDGC-MS Analyse.....  | 83        |
| 5.2.5      | GC-C-IRMS Analyse.....  | 86        |
| 5.2.6      | GC-P-IRMS Analyse .....   | 91        |
| <b>5.3</b> | <b>Authentizität von Anis- und Fenchelölen .....</b>  | <b>96</b> |
| 5.3.1      | Materialien .....   | 96        |
| 5.3.2      | Probenaufarbeitung .....  | 97        |
| 5.3.3      | GC-MS Analyse .....   | 98        |
| 5.3.4      | enantio-MDGC-MS Analyse.....  | 100       |

---

|            |  |            |
|------------|--|------------|
| 5.3.5      | GC-C-IRMS Analyse.....                           | 101        |
| 5.3.6      | GC-P-IRMS Analyse .....                          | 104        |
| <b>5.4</b> | <b>Authentizität von Kümmelölen .....</b>        | <b>107</b> |
| 5.4.1      | Materialien .....                                | 107        |
| 5.4.2      | Probenaufarbeitung .....                         | 108        |
| 5.4.3      | GC-MS Analyse .....                              | 108        |
| 5.4.4      | enantio-MDGC-MS Analyse.....                     | 109        |
| 5.4.5      | GC-C-IRMS Analyse.....                           | 110        |
| 5.4.6      | GC-P-IRMS Analyse .....                          | 112        |
| <b>6</b>   | <b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>                | <b>115</b> |
|            | Publikationen, Patente und Tagungsbeiträge ..... | 119        |
|            | Lebenslauf .....                                 | 120        |

## Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

|                |   |
|----------------|---|
| Abb.           | Abbildung   |
| CAM            | Crassulacean Acid Metabolism  |
| cm             | Zentimeter  |
| Cut            | Transfer von Vorsäule auf die Hauptsäule in der MDGC-Technik                            |
| DAB            | Deutsches Arzneibuch  |
| DC             | Dünnschichtchromatographie  |
| d <sub>f</sub> | Filmdicke   |
| enantio        | enantioselektiv   |
| EuAB           | Europäisches Arzneibuch   |
| eV             | Elektronenvolt  |
| et al.         | et alii   |
| FID            | Flammenionisationsdetektor  |
| g              | Gramm   |
| GC             | Gaschromatographie/Gaschromatograph   |
| GC-C-IRMS      | Gaschromatographie-Combustion-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie/Massenspektrometer |
| GC-MS          | Gaschromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometer                               |
| GC-P-IRMS      | Gaschromatographie-Pyrolyse-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie                      |
| GISP           | Greenland Ice Sheet Precipitation   |
| °C             | Grad Celsius  |
| GMP            | Good Manufacturing Practice (Gute Herstellungspraxis)                                   |
| h              | Stunde  |
| IAEA           | International Atomic Energy Agency (Internationale Atomenergiebehörde)                  |
| i.d.           | Innendurchmesser  |
| i.d.R.         | in der Regel  |
| IRMS           | Isotope Ratio Mass Spectrometry (Isotopenverhältnis-massenspektrometrie/-spektrometer)  |
| ITD            | Ion Trap Detector   |
| MDGC           | Multidimensionale(r) Gaschromatographie/Gaschromatograph                                |
| min            | Minute  |
| MS             | Massenspektrometrie/Massenspektrometer  |
| m/z            | Verhältnis Masse zu Ladung  |
| n              | Anzahl der Messungen  |
| NBS            | National Bureau of Standards  |
| n.b.           | nicht bestimmbar  |

|          |  |
|----------|--|
| n.n.     | nicht nachweisbar  |
| NMR      | Kernresonanzspektroskopie  |
| PEP      | Phosphoenolpyruvat   |
| PDB      | PeeDee Belemnite   |
| rel.     | relativ  |
| Rubisco  | Ribulosebisphosphat-Carboxylase/Oxygenase  |
| s        | Sekunde  |
| SLAP     | Standard Light Antarctic Precipitation   |
| SMOW     | Standard Mean Ocean Water  |
| SNIF-NMR | Site-specific Natural Isotope Fractionation (Stellungsspezifische Isotopenanalyse mittels Kernresonanzspektroskopie) |
| sog.     | sogenannt  |
| Tab.     | Tabelle  |
| TC/EA    | High Temperature Conversion Elemental Analyzer   |
| V        | Volt   |
| vgl.     | vergleiche   |
| V-PDB    | Vienna-PeeDee Belemnite  |
| V-SMOW   | Vienna-Standard Mean Ocean Water   |
| µg       | Mikrogramm   |
| µl       | Mikroliter   |
| µm       | Mikrometer   |



# 1 Einleitung

## 1.1 Authentizität ätherischer Öle

### 1.1.1 Ätherische Öle

Die *International Organization for Standardization* definiert „ätherisches Öl“ als ein Produkt, das entweder durch Destillation oder mechanische Behandlung aus Pflanzenmaterial hergestellt wird<sup>1</sup>. Das Hauptverfahren zur Gewinnung von ätherischen Ölen ist die Wasserdampfdestillation. Darüber hinaus wird auch die Dampfdestillation angewendet, bei der das Pflanzenmaterial nicht in Kontakt mit siedendem Wasser kommt, sondern nur mit Wasserdampf. Diese Methode, die z.B. zur Gewinnung von Lavendelölen eingesetzt wird, gilt als schonenderes Verfahren.

Ätherische Öle werden aus verschiedenen Teilen aromatischer Pflanzen gewonnen: aus den Früchten (Fenchel, Anis und Kümmel), den Blüten oder Blütenständen (Lavendel, Lavandin, Rose), den Blättern (Basilikum, Minze), den Nadeln (Kiefern), den Wurzeln (Ingwer, Baldrian) sowie dem Holz (Sandelholz)<sup>2</sup>.

Ätherische Öle besitzen ein breites Anwendungsgebiet. Sie werden in der Lebensmittelindustrie, Kosmetik und Parfümerie als Duft- und Aromastoffe sowie aufgrund ihrer physiologischen Wirkung auch in der Pharmazie eingesetzt. **Tab. 1.** gibt eine Übersicht über die Marktbedeutung ätherischer Öle<sup>2</sup>.

**Tab. 1.** Marktbedeutung ätherischer Öle

|  |      |
|--|------|
| Aroma-Extrakte in der Lebensmittelindustrie                                | 55 % |
| Duftstoffe in der Parfümerie/Kosmetik                                      | 20 % |
| Rohstoffe in der Riechstoffindustrie für die Isolierung von Inhaltsstoffen | 15 % |
| Wirkstoffe in der Pharmazie  | 5 %  |
| sog. „Naturwaren-Produkte“   | 5%   |

Für die Verwendung im pharmazeutischen Bereich gelten die Monographien des Deutschen und des Europäischen Arzneibuchs<sup>3,4</sup>. Die Identitäts- und Reinheitsprüfung der Monographien beruhen auf Kenngrößen wie Dichte, Brechungsindex und Drehwert, dünnschichtchromatographischen Untersuchungen sowie der gaschromatographischen Identifizierung und Quantifizierung charakteristischer Komponenten.

Aufgrund des steigenden Bedarfs einerseits und begrenzter natürlicher Ressourcen andererseits besitzen Methoden zur Echtheitsbewertung ätherischer Öle ein zunehmendes Interesse.

## 1.1.2 Methoden zur Authentizitätsbewertung

### 1.1.2.1 Allgemeines

Die Anwendung der Gaschromatographie, insbesondere in Kopplung mit der Massenspektrometrie (GC-MS), bietet die Möglichkeit der qualitativen und quantitativen Analyse von ätherischen Ölen. Im Hinblick auf die Authentizitätsbeurteilung von ätherischen Ölen kann diese Methode angewendet werden, um Verbindungen zu identifizieren, die nicht natürlich oder zumindest nicht in dem untersuchten ätherischen Öl vorkommen. So kann z.B. über den Nachweis von Synthesenebenprodukten der Zusatz synthetischer Komponenten geführt werden. Beispielsweise kann synthetisches Linalool über die Hydrierung von Dehydrolinalool hergestellt werden, wobei als Nebenprodukt auch Dihydrolinalool gebildet wird. Über den Nachweis des Dihydrolinalools kann ein Zusatz von synthetischem Linalool identifiziert werden<sup>5</sup>. Solche indirekten Nachweise von Verfälschungen sind jedoch aufgrund wechselnder Synthesewege sowie der Verfügbarkeit hochreiner Chemikalien nur bedingt geeignet.

Weiterhin kann mittels GC-MS die quantitative Zusammensetzung der Komponenten ätherischer Öle bestimmt werden. Somit lassen sich charakteristische Profile für einzelne Öle bestimmen, die zur Authentizitätsbewertung herangezogen werden können. Die Zusammensetzung von ätherischen Ölen unterliegt gewissen Schwankungen, die von der botanischen Spezifikation, der Provenienz des Pflanzenmaterials, vom Zeitpunkt der Ernte und von technologischen Faktoren abhängen<sup>6</sup>. Daher kann ein Verschnitt mit anderen ätherischen Ölen oder mit synthetischen Verbindungen nicht immer eindeutig über die quantitative Analyse mittels GC-MS nachgewiesen werden, sofern die Zusammensetzung trotz eines Verschnitts noch innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite liegt.

In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass zwei biochemische Prinzipien – Enantioselektivität und Isotopendiskriminierung während der Biosynthese – als Grundlage für die Echtheitsbewertung von ätherischen Ölen und Aromen herangezogen werden können. Voraussetzung hierfür sind geeignete analytische Methoden und umfassende Daten von authentischen Materialien.

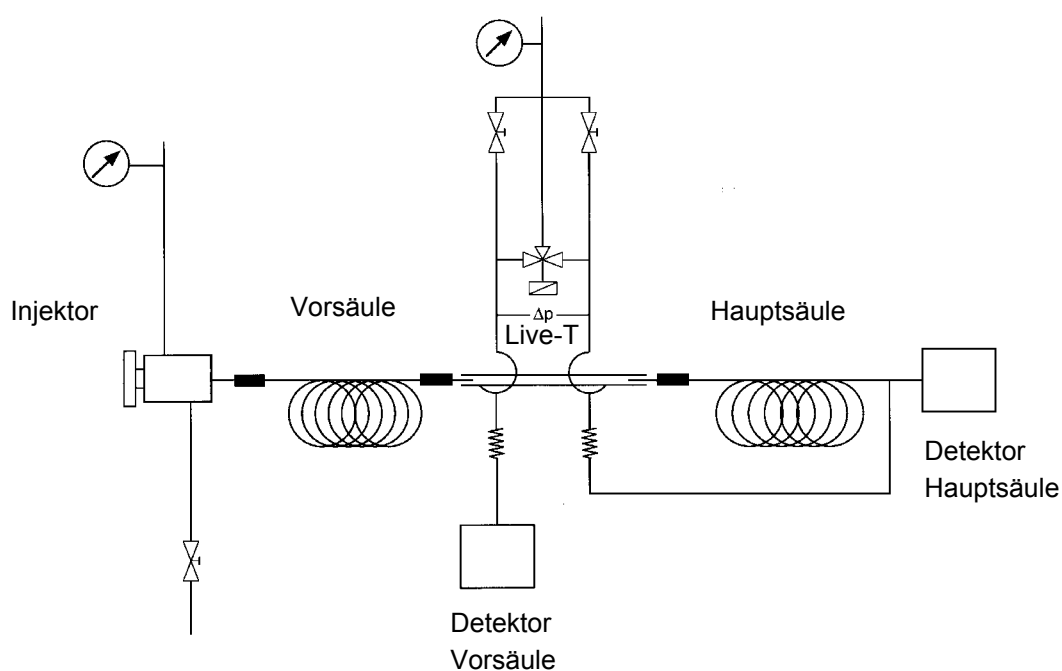
### 1.1.2.2 Enantioselektive Analytik

Die enantioselektive Diskriminierung ist ein weit verbreitetes Phänomen in der Biogenese chiraler Naturstoffe. Aroma- und Duftstoffe kommen häufig enantiomerenrein oder in einem charakteristischen Enantiomerenverhältnis vor, weil enzymkatalysierte Reaktionen im allgemeinen mit hoher Stereospezifität verlaufen. Da bei der nicht asymmetrischen Synthese chiraler Aromastoffe racemische Mischungen entstehen, unterscheiden sich die Enantiomerenverhältnisse natürlich vorkommender Aroma- und Duftstoffe üblicherweise von denen synthetischer Herkunft. Das Prinzip der Enantioselektivität während der Biosynthese von Aromastoffen kann daher

als endogener Parameter zur Beurteilung der Authentizität von Duft- und Aromastoffen herangezogen werden.

Zur Analyse von flüchtigen chiralen Verbindungen in der Aromastoffanalytik bietet sich die enantioselektive Kapillargaschromatographie an. Die Verwendung von 6-O-*tert.*-butyldimethylsilylierten Cyclodextrin-Derivaten als chirale stationäre Phasen in der Kapillargaschromatographie ermöglicht die Trennung von Duft- und Aromastoffen der verschiedenen Stoffklassen<sup>7,8</sup>.

Da es sich bei Aromaextrakten und ätherischen Ölen vorwiegend um komplexe Mischungen handelt, ist die enantioselektive Analyse mittels Multidimensionaler Gaschromatographie (MDGC) insbesondere in Kopplung mit der Massenspektrometrie sehr geeignet<sup>9,10</sup>. Bei dieser Methode entfällt zumeist jede aufwendige Aufarbeitung, da auch komplexe Gemische auf der achiralen Vorsäule vorgetrennt und aufgereinigt werden. Chirale Komponenten, deren Enantiomerenverhältnisse bestimmt werden sollen, können dann selektiv auf die chirale Hauptsäule transferiert werden. Der Transfer von der Vor- auf die Hauptsäule kann über eine Live-T-Säulenschaltung erfolgen (vgl. **Abb. 1**).



**Abb. 1.** Schematischer Aufbau eines MDGC-Systems mit Live-T-Säulenschaltung

Limitiert wird die Beurteilung der Echtheit mittels enantioselektiver Analytik insbesondere durch mögliche Verfälschungen von ätherischen Ölen oder Aromen mit isolierten Naturstoffen oder synthetisch bzw. biotechnologisch erzeugten Verbindungen hoher Enantiomerenreinheit. Weiterhin können natürliche Racemate aufgrund nicht-enzymatischer Reaktionen vorliegen oder es kann im Verlaufe der Herstellung zu struktur- und/oder milieubedingten Racemisierungen kommen.

### 1.1.2.3 Methoden zur Bestimmung von Isotopenverhältnissen

#### 1.1.2.3.1 Isotopendiskriminierung

Aufgrund der Isotopendiskriminierung während der Biosynthese von Naturstoffen kann die Bestimmung von Isotopenverhältnissen stabiler Isotope zur Echtheitsbewertung von Duft- und Aromastoffen herangezogen werden.

Organische Substanzen sind vorwiegend aus den Elementen Wasserstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff aufgebaut. Diese Elemente kommen als Isotopengemische vor und werden als Mischelemente bezeichnet. In **Tab. 2.** sind die existierenden stabilen Isotope, deren Häufigkeit und relative Isotopenmassen der wichtigsten Bioelemente aufgeführt.

**Tab. 2.** Häufigkeit der stabilen Isotope von Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff <sup>11</sup>

| Element     | Isotope         | Häufigkeit<br>[‰] | rel. Isotopenmasse |
|-------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| Wasserstoff | <sup>1</sup> H  | 99,985            | 1,007825           |
|             | <sup>2</sup> H  | 0,015             | 2,014102           |
| Kohlenstoff | <sup>12</sup> C | 98,90             | 12,000000          |
|             | <sup>13</sup> C | 1,10              | 13,003355          |
| Stickstoff  | <sup>14</sup> N | 99,63             | 14,003074          |
|             | <sup>15</sup> N | 0,37              | 15,000109          |
| Sauerstoff  | <sup>16</sup> O | 99,762            | 15,994915          |
|             | <sup>17</sup> O | 0,038             | 16,999130          |
|             | <sup>18</sup> O | 0,200             | 17,999159          |

Wegen der unterschiedlichen Atomradien von Isotopen variieren auch die Bindungslängen und Bindungsenergien von Isotopomeren. Als Isotopomere bezeichnet man Moleküle gleicher chemischer Zusammensetzung, die sich in der Isotopenzusammensetzung unterscheiden. Dadurch unterscheiden sich Isotopomere in Bezug auf die Gleichgewichtskonstanten bei Austauschreaktionen und die Geschwindigkeitskonstanten bei chemischen Reaktionen. Diese Effekte bezeichnet man als thermodynamischen (Isotopenaustausch) und kinetischen Isotopeneffekt (unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten der Isotopomere)<sup>12</sup>.

Aufgrund der Isotopeneffekte kommt es zu einer Isotopendiskriminierung, wobei in der Regel das leichtere Isotop im Reaktionsprodukt angereichert wird. Diese Isotopendiskriminierung tritt auch im Stoffwechsel lebender Organismen und somit auch während der Biosynthese bei Pflanzen auf.

## Kohlenstoff

Die primären Kohlenstoffquellen der Erde sind das in den Ozeanen gelöste Kohlendioxid und das Kohlendioxid der Atmosphäre. Dieses ist aufgrund des thermodynamischen Isotopeneffekts bereits um ca. 8 ‰ gegenüber dem in den Ozeanen gelösten Kohlendioxid angereichert<sup>13</sup>.

Ausschlaggebend für die Isotopenverteilung des Kohlenstoffs in organischen Verbindungen von Pflanzen ist ein kinetischer Isotopeneffekt bei der primären CO<sub>2</sub>-Fixierung in der Photosynthese. Man unterscheidet aufgrund der unterschiedlichen Photosynthesewege zwischen C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>- und CAM-Pflanzen (**C**rassulacean **A**cid **M**etabolism)

### C<sub>3</sub>-Pflanzen

Bei den C<sub>3</sub>-Pflanzen findet die primäre CO<sub>2</sub>-Fixierung im sogenannten Calvin-Zyklus statt. Dabei wird das atmosphärische CO<sub>2</sub> in Ribulose-1,5-bisphosphat eingebaut. Als Intermediat entsteht ein instabiler C<sub>6</sub>-Körper (2-Carboxy-3-keto-D-arabinit-1,5-bisphosphat), der sofort zu 2 C<sub>3</sub>-Körpern (3-Phosphoglycerinsäure) zerfällt. Diese Reaktion wird durch das Enzym Ribulosebiphosphat-Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) katalysiert<sup>14,15</sup>. Aufgrund des kinetischen Isotopeneffekts verursacht dieses Enzym eine Isotopendiskriminierung. Es kommt zu einer Anreicherung an <sup>13</sup>C. Weiterhin führen auch Lösungs- und Diffusionsprozesse zu Diskriminierungseffekten, die Einfluss auf das Isotopenverhältnis haben<sup>16</sup>.

### C<sub>4</sub>-Pflanzen

Bei den C<sub>4</sub>-Pflanzen sind zwei räumlich voneinander getrennte Kreisläufe für den Einbau von CO<sub>2</sub> verantwortlich. In den Mesophyllzellen findet die primäre Fixierung des CO<sub>2</sub> an Phosphoenolpyruvat statt. Die Reaktion wird von dem Enzym Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEP-Carboxylase) katalysiert, das weniger stark diskriminierend wirkt als das Enzym Rubisco, das die primäre CO<sub>2</sub>-Fixierung bei den C<sub>3</sub>-Pflanzen katalysiert. Das entstehende Oxalacetat reagiert zu Malat, welches dann in die Bündelscheidenzellen transportiert wird, in denen das aufgenommene CO<sub>2</sub> abgespalten und in den Calvin-Zyklus eingeschleust wird. Der dem Calvin-Zyklus bei C<sub>4</sub>-Pflanzen vorgeschaltete Zyklus zur primären CO<sub>2</sub>-Fixierung wird als Hatch-Slack-Zyklus bezeichnet. Da die Affinität der PEP-Carboxylase gegenüber CO<sub>2</sub> größer ist als die von Rubisco, ist diese Art der CO<sub>2</sub>-Fixierung effektiver, wenn auch energieaufwendiger. Dieser alternative Weg ist eine Anpassung von Pflanzen an trockene, sonnige und heiße Standorte<sup>14,15</sup>.

### CAM-Pflanzen

Die CAM-Pflanzen stellen ebenfalls eine Anpassung an trockene, stark sonnenbeschienene und heiße Standorte dar. Auch in diesem Fall sind die beiden Enzyme PEP-Carboxylase und Rubisco am CO<sub>2</sub>-Einbau beteiligt. Allerdings sind die beiden Prozesse nicht räumlich getrennt – wie bei den C<sub>4</sub>-Pflanzen – sondern finden zeitlich getrennt statt. Nachts wird CO<sub>2</sub> bei geöffneten Spaltöffnungen aufgenommen

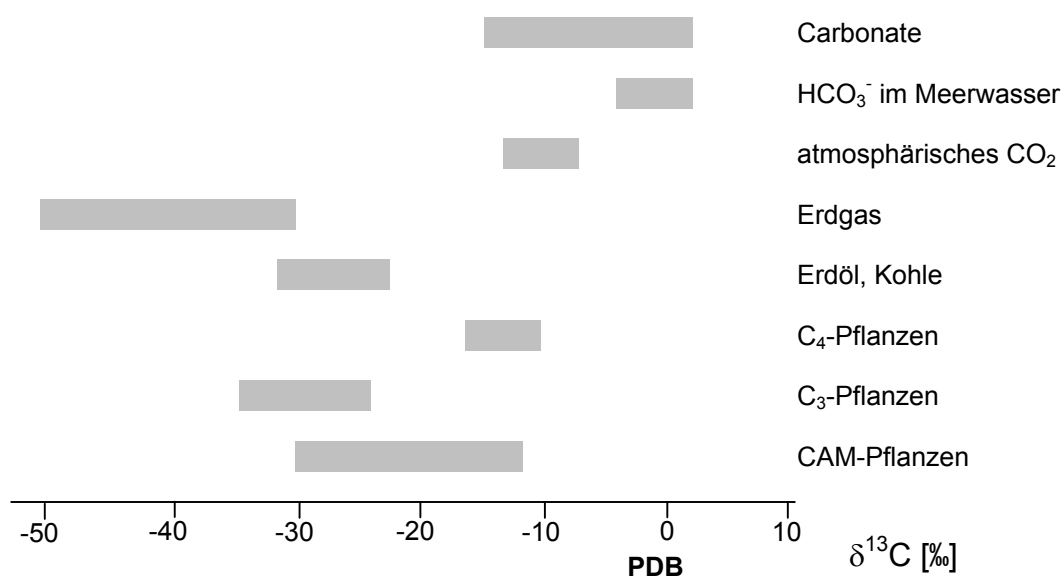
und als Malat gespeichert. Tagsüber wird das  $\text{CO}_2$  wieder freigesetzt und an Ribulose-1,5-bisphosphat gebunden und in den Calvin-Zyklus eingeschleust. Ähnlich wie bei den  $\text{C}_4$ -Pflanzen ist bei den CAM-Pflanzen die Diskriminierung von  $^{13}\text{C}$  geringer. Allerdings passen sich fakultative CAM-Pflanzen veränderten Umweltbedingungen an und können zum Photosyntheseweg der  $\text{C}_3$ -Pflanzen wechseln. Somit kann bei CAM-Pflanzen eine große Spannbreite bei den  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen auftreten<sup>14,15</sup>.

In **Tab. 3.** sind die Bereiche der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von  $\text{C}_3$ -,  $\text{C}_4$ - und CAM-Pflanzen aufgeführt.

**Tab. 3.**  $\delta^{13}\text{C}$ -Bereiche von  $\text{C}_3$ -,  $\text{C}_4$ - und CAM-Pflanzen<sup>17,18</sup>

| Pflanzentyp            | wichtige Kulturpflanzen        | $\delta^{13}\text{C}$ -Bereiche<br>[‰] |
|------------------------|--------------------------------|--|
| $\text{C}_3$ -Pflanzen | Weizen, Zuckerrübe, Weintraube | -24 – -35                              |
| $\text{C}_4$ -Pflanzen | Mais, Zuckerrohr, Hirse        | -10 – -16                              |
| CAM-Pflanzen           | Ananas, Vanille                | -12 – -30                              |

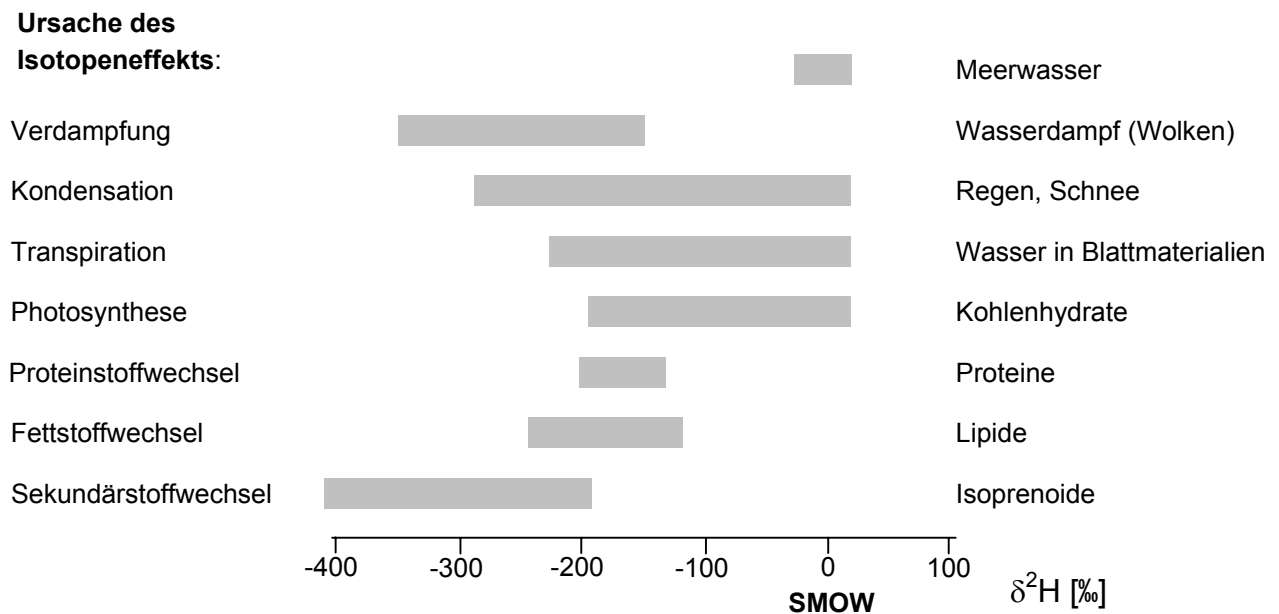
Kinetische Isotopeneffekte treten nicht nur bei der  $\text{CO}_2$ -Fixierung sondern auch im Sekundärstoffwechsel auf. Somit unterscheiden sich die Isotopenwerte von einzelnen Stoffgruppen (wie Kohlenhydraten, Lipiden und Proteinen) innerhalb einer Pflanze<sup>17</sup>. Aufgrund der beschriebenen Diskriminierungseffekte ergeben sich die in **Abb. 2.** dargestellten Schwankungsbreiten der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte.



**Abb. 2.**  $\delta^{13}\text{C}$ -Bereiche der Hauptkohlenstoffreservoirs der Erde<sup>17,18</sup>  
(PDB: PeeDee Belemnite)

## Wasserstoff

Isotopeneffekte sind prinzipiell um so größer, je größer die Massendifferenz der Isotope ist. Wie aus **Abb. 3** ersichtlich treten im Falle des Wasserstoffs große Diskriminierungseffekte auf.



**Abb. 3.** Isotopeneffekte und Schwankungsbreiten der  $\delta^2H$ -Werte<sup>19</sup>  
(SMOW: Standard Mean Ocean Water)

Die einzige Wasserstoffquelle der Pflanzen ist das Wasser. Isotopeneffekte werden durch Verdunstung und Kondensation hervorgerufen. Schwere Isotopomere des Wassers tendieren dazu, langsamer zu verdunsten und schneller zu kondensieren. Aus diesem Grund ist der Isotopenwert des von den Pflanzen aufgenommenen Wassers von dem Isotopenwert des Niederschlags und daher von den geographischen und klimatischen Bedingungen des Standorts abhängig. Aufgrund des ausgeprägten kinetischen Isotopeneffekts im Falle des Wasserstoffs, kommt es im Primär- und Sekundärstoffwechsel zu starken Fraktionierungen, die zu deutlichen Unterschieden in den Isotopenverhältnissen führen<sup>19,20</sup>.

Wegen der dargestellten Isotopendiskriminierungen und der dadurch bedingten Unterschiede in den Isotopenverhältnissen der Elemente Wasserstoff und Kohlenstoff (sowie auch Stickstoff und Sauerstoff) in Materialien verschiedenerer Quellen, kann die Bestimmung von Isotopenverhältnissen zur Authentizitätsbestimmung herangezogen werden. Für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen stehen derzeit zwei Methoden zur Verfügung: SNIF-NMR (**S**ite-specific **N**atural **I**sotope **F**ractionation) und IRMS (**I**sotope **R**atio **M**ass **S**pectrometry).

### 1.1.2.3.2 Site-specific Natural Isotope Fractionation-NMR (SNIF-NMR)

Mit der quantitativen  $^2\text{H}$ -NMR Spektroskopie ist es möglich, stellungsspezifische Deuteriumverteilungen in Molekülen zu bestimmen. Da Deuterium an den verschiedenen Positionen organischer Moleküle nicht statistisch verteilt ist, sondern durch Isotopeneffekte signifikante Unterschiede aufweisen kann, eignet sich dieses Verfahren zur Authentizitätsbewertung von Aromastoffen. Martin et al. erhielten auf diese Weise charakteristische Isotopenmuster für Aromastoffe, wie z.B. für Anethol und Vanillin<sup>21,22</sup>.

Der Vorteil der Methode liegt darin, dass die Isotopenverhältnisse stellungsspezifisch bestimmt werden und somit für bestimmte Fragestellungen deutlich mehr Erkenntnisse bringen als die über die Isotopenverhältnismassenspektrometrie ermittelten Isotopenverhältnisse. Ein wesentlicher Nachteil der SNIF-NMR liegt darin, dass relativ große Mengen der isolierten, chemisch reinen und diskriminierungsfrei aufgearbeiteten Verbindung benötigt werden. Weiterhin sind die Investitionskosten sehr hoch.

### 1.1.2.3.3 Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS)

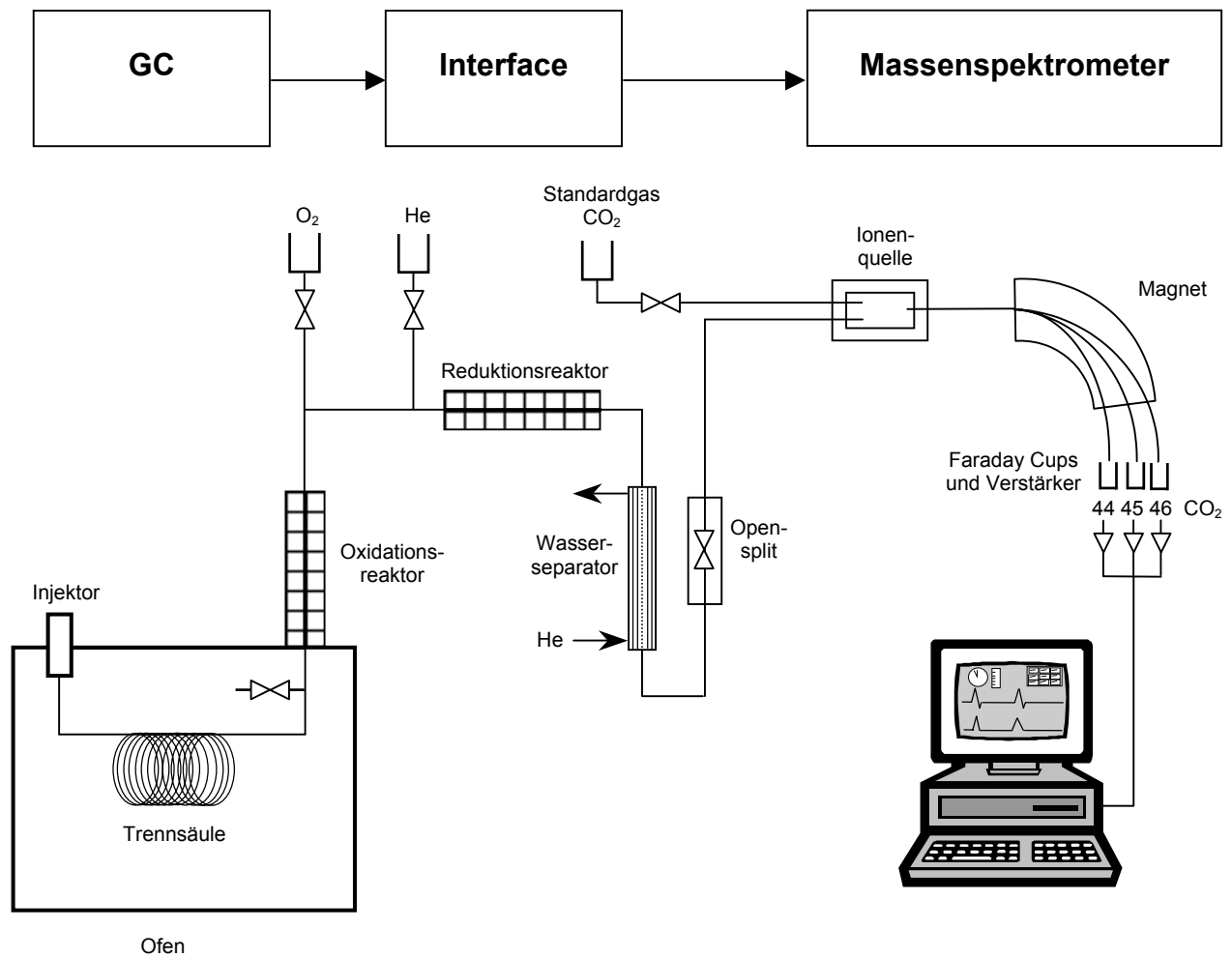
Die Isotopenverhältnismassenspektrometrie (IRMS) ist eine Methode, die schon relativ lange bekannt ist, aber noch immer weiteren Bedarf an Forschung und Entwicklung erfordert.

Erste Anwendungen gehen auf J. J. Thompson und F. W. Aston im Jahr 1919 zurück. Der Aufbau moderner Isotopenmassenspektrometer beruht auf den Weiterentwicklungen von A. O. Nier um 1940. Die Einführung des doppelten Einlasssystems von McKinney im Jahre 1950 ermöglichte die relative Messung von Isotopenverhältnissen einer Probe in Bezug auf ein Referenzgas<sup>23</sup>.

Die Nachteile der konventionellen IRMS, bei der relativ große Mengen des reinen Analyten benötigt werden und diese in eine messbare Gasart überführt werden müssen, wurden durch die Entwicklung von Continuous-flow-Techniken und der Kopplung der Gaschromatographie (GC) mit der Isotopenmassenspektrometrie überwunden. Die Anfänge der GC-IRMS Kopplungen zur Bestimmung von Kohlenstoff-Isotopenverhältnissen gehen auf Sano (1976) sowie Matthews und Hayes (1978) zurück<sup>23</sup>. Bei dieser Methode wird das GC-Eluat in einem Mikroverbrennungsofen oxidiert und das entstandene Kohlendioxid gelangt über ein spezielles Interface in das Isotopenmassenspektrometer. Seit 1990 sind die GC-IRMS-Systeme zur Bestimmung von Kohlenstoffisotopenverhältnissen kommerziell erhältlich<sup>23</sup>.

Der Aufbau der heute verfügbaren GC-Combustion-IRMS (GC-C-IRMS)-Systeme ist in **Abb. 4.** dargestellt. Dabei wird die Kapillargaschromatographie über ein sogenanntes „Combustion-Interface“ mit dem Isotopenmassenspektrometer gekoppelt.





**Abb. 4.** Schematischer Aufbau der GC-C-IRMS-Kopplung

Nach der gaschromatographischen Trennung gelangen die Komponenten eines Gemisches in den Oxidationsreaktor, in dem bei 960°C eine Verbrennung zu CO<sub>2</sub> und Wasser stattfindet. Der Oxidationsreaktor besteht aus einer Keramikröhre, in der sich drei verschiedene Drähte (Platin, Kupfer und Nickel) befinden. Der Platindraht dient als Katalysator, der Nickel- sowie der Kupferdraht dienen als Sauerstofflieferanten für die Verbrennung. Durch Einleiten von Sauerstoff bei der Betriebstemperatur von 960°C bilden sich Kupfer- und Nickeloxid. Aus den gebildeten Oxiden wird dann Sauerstoff zur Oxidation der von der GC-Säule eluierenden organischen Verbindungen freigesetzt. Der benötigte Sauerstoff wird vom Nickeloxid abgegeben und das Kupferoxid dient als Sauerstoffspeicher zur Regenerierung des Nickeloxids. Der Oxidationsreaktor muss in regelmäßigen Abständen durch Einleiten von Sauerstoff reoxidiert werden. Der nachgeschaltete Reduktionsreaktor, der drei Kupferdrähte enthält, ist vor allem bei der Bestimmung von Stickstoffisotopenverhältnissen zur Reduktion von Stickoxiden zu Stickstoff erforderlich. Im Falle der Bestimmung von Kohlenstoffisotopenverhältnissen dient er dazu, den aus

dem Oxidationsreaktor „ausblutenden“ Sauerstoff durch die Bildung von Kupferoxid abzufangen.

Das bei der Verbrennung entstandene Wasser kann die Messung durch die Bildung von  $\text{HCO}_2^+$ -Ionen stören, da diese die Masse 45 besitzen und somit  $^{13}\text{CO}_2$  vortäuschen würden. Um diesen Fehler zu vermeiden, wird das Wasser mit Hilfe einer semipermeablen Nafion<sup>TM</sup>-Membran, die im Gegenstromverfahren mit Helium gespült wird, quantitativ entfernt.

Das  $\text{CO}_2$  gelangt dann über eine Open-split-Kopplung, die für einen konstanten Fluss sorgt, in die Ionenquelle. Über eine weitere Kapillare kann Referenzgas in die Ionenquelle eingelassen werden.

Die Isotopomere des Kohlendioxids können nach Ionisation und Auftrennung simultan über drei Faraday-Cups registriert werden:

|          |  |
|----------|--|
| m/z = 44 | $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$   |
| m/z = 45 | $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ und $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ |
| m/z = 46 | $^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$                                    |

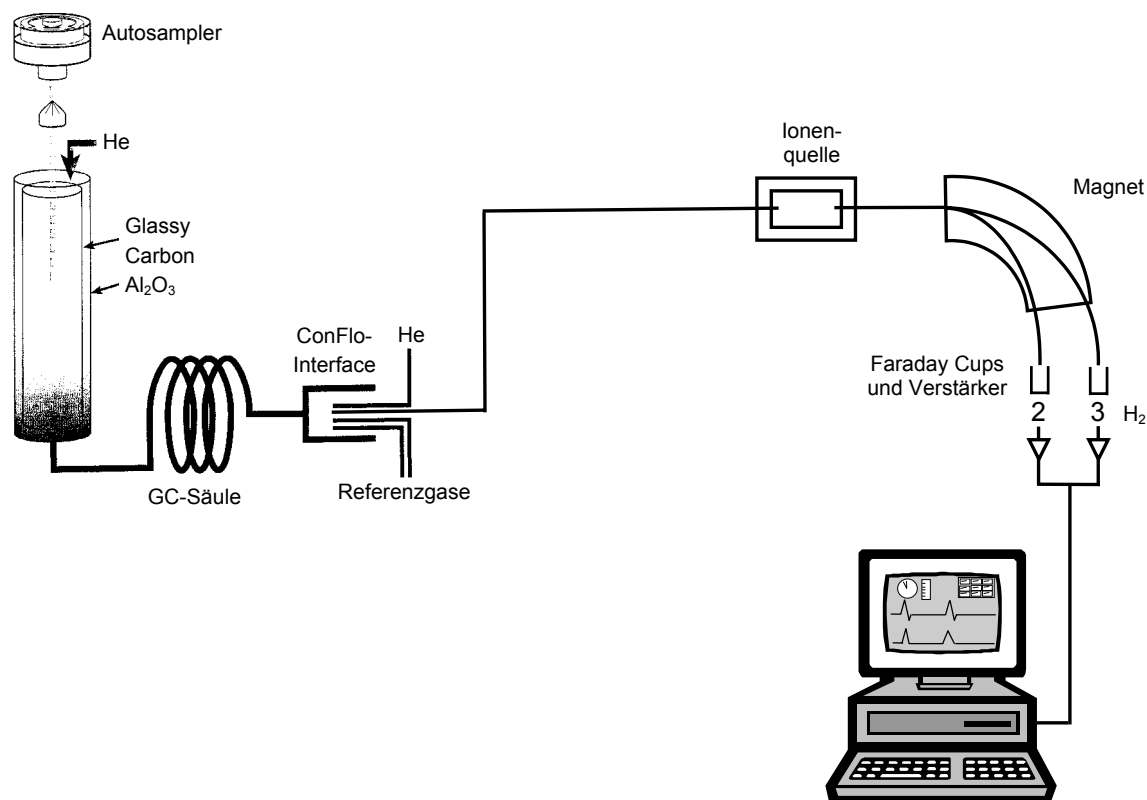
Das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis des analysierten  $\text{CO}_2$  wird aus dem Quotienten der Signale der Massen 45 und 44 errechnet. Der Anteil des Signals der Masse 45, der durch  $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$  verursacht wird, wird über das in der Natur konstante Verhältnis von  $^{18}\text{O}/^{17}\text{O}$  korrigiert. Dazu wird zusätzlich die Masse 46 detektiert.

Die Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen in der Continuous-flow-Technik war lange Zeit mit Schwierigkeiten verbunden, da die Detektion der Masse 3 (HD) durch die große Menge des Trägergases Helium (m/z = 4) gestört wurde. Dieses Problem konnte durch die Entwicklung speziell konstruierter Ablenkrohre bzw. durch die Verwendung eines Palladiumfilters überwunden werden<sup>24,25</sup>. Eine kommerziell erhältliche Kopplung des Elemental Analyzers bzw. des Gaschromatographen mit dem Isotopenmassenspektrometer zur Bestimmung von Wasserstoffisotopenverhältnissen löst das Problem, indem ein Energiefilter vor dem Faraday-Cup der Masse 3 das störende Signal des Heliums unterdrückt<sup>26</sup>.

### TC/EA-IRMS

Die Kopplung des Isotopenmassenspektrometers mit dem High Temperature Conversion Elemental Analyzer (TC/EA) bietet die Möglichkeit, die  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Substanzen zu bestimmen. Dazu werden die Substanzen in Zinn- oder Silberkapseln eingewogen und gelangen über einen Autosampler direkt in den Pyrolysereaktor (zum genauen Aufbau des Reaktors vgl. Kapitel 5.1.2), in dem sie bei  $1450^\circ\text{C}$  quantitativ zu Kohlenmonoxid, Wasserstoff und Kohlenstoff umgewandelt werden. Für Flüssigkeiten besteht die Möglichkeit, diese über einen Injektor direkt in den Pyrolysereaktor zu injizieren. Die entstandenen Gase werden in einem nachgeschalteten Gaschromatographen, der eine mit Molekularsieb gepackte Säule enthält, getrennt. So lassen sich Kohlenmonoxid und Wasserstoff

simultan in einem Lauf bestimmen und Störungen durch Stickstoff werden verhindert. Die Kopplung des Elemental Analyzers mit dem Isotopenmassenspektrometer erfolgt über ein sogenanntes ConFlo-Interface. Der Aufbau des TC/EA-IRMS-Systems ist in **Abb. 5.** dargestellt.

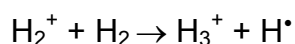


**Abb. 5.** Schematischer Aufbau der TC/EA-IRMS-Kopplung

Die Isotopomere des Wasserstoffs können dann nach Ionisation und Auftrennung simultan über zwei Faraday-Cups registriert werden:

|           |           |
|-----------|-----------|
| $m/z = 2$ | $H_2$     |
| $m/z = 3$ | $HD, H_3$ |

Das  $^2H/^1H$ -Isotopenverhältnis des analysierten  $H_2$  wird aus dem Quotienten der Signale der Massen 3 und 2 errechnet. In der Ionenquelle entstehen durch die Reaktion von  $H_2^+$ -Ionen mit  $H_2$   $H_3^+$ -Ionen.



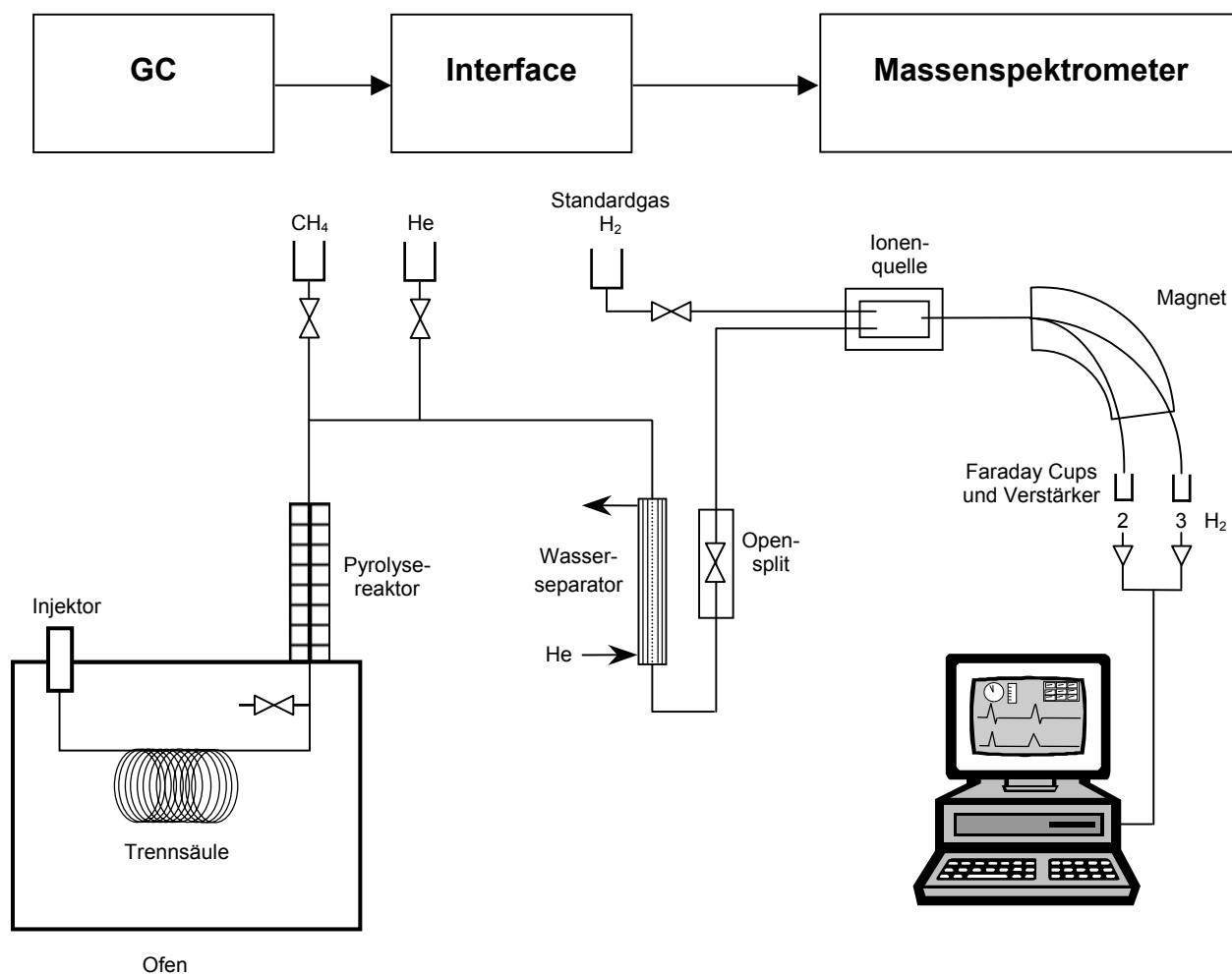
Der Anteil des Signals der Masse 3, der durch  $H_3^+$ -Ionen verursacht wird, wird über den sogenannten  $H_3$ -Faktor korrigiert. Die Bildung von  $H_3^+$ -Ionen ist abhängig von der Bildung von  $H_2^+$ -Ionen und somit vom Partialdruck des Wasserstoffs.

$$[H_3^+] \propto [H_2^+] [H_2] = K [H_2]^2$$

Dabei ist die Proportionalitätskonstante ( $K$ ) der  $H_3$ -Faktor. Der  $H_3$ -Faktor wird in der Praxis ermittelt, indem das Verhältnis der Signale der Masse 3/Masse 2 von Referenzgaspeaks unterschiedlicher Intensität bestimmt wird<sup>27,28</sup>.

### GC-P-IRMS

Der Aufbau der heute kommerziell erhältlichen GC-Pyrolyse-IRMS (GC-P-IRMS)-Systeme ist in **Abb. 6.** dargestellt.



**Abb. 6.** Schematischer Aufbau der GC-P-IRMS-Kopplung

Nach der gaschromatographischen Trennung gelangen die Komponenten eines Gemisches in den Pyrolysereaktor, in dem bei einer Temperatur größer  $1400^{\circ}\text{C}$  die Pyrolyse der organischen Komponenten zu C, CO und  $\text{H}_2$  erfolgt. Der Pyrolyse-reaktor besteht aus einer leeren Keramikröhre.

Das entstandene  $\text{H}_2$  gelangt dann über den Wasserseparator und die Open-split-Kopplung in das Isotopenmassenspektrometer. Über eine weitere Kapillare kann Referenzgas in die Ionenquelle eingelassen werden. Die Isotopomere des Wasserstoffs werden nach Ionisation und Auftrennung simultan über zwei Faraday-Cups ( $m/z = 2$  und  $3$ ) registriert. Zur Bestimmung des  $H_3$ -Faktors vgl. Beschreibung des TC/EA-IRMS-Systems (S. 11).

### Angabe von Isotopenverhältnissen und internationale Standards

In der Isotopenmassenspektrometrie ist es üblich, die Isotopenverhältnisse als  $\delta$ -Werte in Promille relativ zu einem internationalen Standard anzugeben.

Es gilt folgende Gleichung:

$$\delta - \text{Wert} [\text{‰}] = \frac{R_{\text{Probe}} - R_{\text{Standard}}}{R_{\text{Standard}}} \times 1000$$

R = Isotopenverhältnis [schweres Isotop/Hauptisotop]

Die internationalen Standards sind von der **International Atomic Energy Agency** (IAEA) festgelegt worden.

$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse werden auf den Standard V-PDB (**Vienna-PeeDee Belemnite**) bezogen. Es handelt sich dabei um Kohlendioxid, das durch 100 %ige Phosphorsäure aus dem Fossil *Belemnitella americana* gewonnen wird. Dieses Fossil besteht aus Calciumcarbonat und stammt aus den Sedimenten der Kreidezeit in der PeeDee-Formation in South Carolina<sup>29</sup>.

$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse werden auf den Standard V-SMOW (**Vienna-Standard Mean Ocean Water**) bezogen. V-SMOW ist ein von der IAEA hergestellter Wasserstandard, dessen Isotopenverhältnis nahe an das des früheren Standards SMOW herankommt. Bei dem ursprünglichen Standard handelt es sich um ein nicht real existierendes Wasser, dessen Isotopenverhältnis nahe an dem des durchschnittlichen Ozeanwassers liegt und das in Bezug auf den Standard NBS 1 (**National Bureau of Standards**) definiert wurde. Weitere gebräuchliche Standards für die Elemente Sauerstoff und Wasserstoff sind SLAP (**Standard Light Antarctic Precipitation**) und GISP (**Greenland Ice Sheet Precipitation**).

Als Bezugspunkt für die Bestimmung von  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Isotopenverhältnissen dient Luftstickstoff.

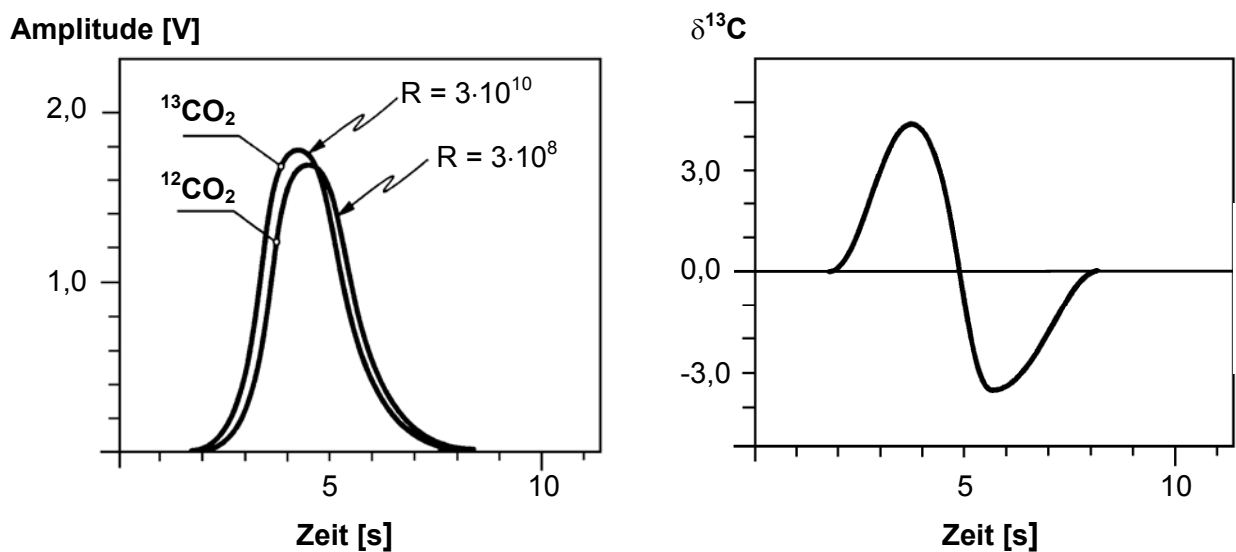
Die  $\delta$ -Werte der in **Tab. 4.** aufgeführten internationalen Standards werden definitionsgemäß gleich 0,0 ‰ gesetzt.

**Tab. 4.** Internationale Standards und deren mittlere Isotopenverhältnisse (R)<sup>30</sup>

| Element                                      | Standard | R          |
|--|----------|------------|
| Wasserstoff<br>$^2\text{H}/^1\text{H}$       | V-SMOW   | 0,00015576 |
| Kohlenstoff<br>$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ | V-PDB    | 0,0112372  |
| Stickstoff<br>$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  | Luft     | 0,0036765  |
| Sauerstoff<br>$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  | V-SMOW   | 0,0020052  |

### Isotopeneffekte in der GC-IRMS

Isotopomere unterscheiden sich in ihrem chromatographischen Verhalten. In der Gas-Flüssig-Chromatographie beobachtet man den sogenannten inversen Isotopeneffekt. Die schweren Isotopomere eluieren vor den leichteren. Dieser Effekt lässt sich durch die kürzeren C-H Bindungslängen bei Beteiligung von schweren Isotopen erklären. Dadurch resultieren für die schwereren Isotopomere kleinere Molvolumina und somit schwächere Wechselwirkungen mit der stationären Phase. Da in der GC-IRMS verschiedene Massenspuren simultan registriert werden, ist der inverse Isotopeneffekt hier besonders gut sichtbar. **Abb. 7.** zeigt die Auswirkungen des inversen Isotopeneffekts am Beispiel der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisbestimmung.



**Abb. 7.** Isotopeneffekte in der Gaschromatographie, Massenspur 44 und 45 sowie deren Verhältnis (dargestellt als  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert) [ $R$  = Widerstand]

Der vordere Teil des Peaks ist mit  $^{13}\text{C}$  angereichert, während im hinteren Teil des Peaks ein relatives  $^{13}\text{C}$ -Defizit vorliegt. Dadurch resultiert bei der Betrachtung des Verhältnisses der Masse 45 zur Masse 44 der charakteristische „isotopic-swing“.

## 1.2 Aufgabenstellung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten Methoden zur Authentizitätsbewertung von ätherischen Ölen entwickelt werden. Neben der Anwendung der enantioselektiven Analytik mittels multidimensionaler Gaschromatographie (enantio-MDGC) und der Bestimmung von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-C-IRMS sollte insbesondere die online-Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS etabliert werden. Die aufgeführten Methoden sollten in der Authentizitätsbewertung von Fenchel-, Anis- und Kümmelölen sowie Lavendel-, Lavandin- und Spikölen angewendet werden.

### Etablierung der Bestimmung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS

- Überprüfung der Richtigkeit der Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS durch den Vergleich der über den Elemental Analyzer und die GC-IRMS-Kopplung bestimmten Isotopenwerte anhand von verschiedenen Standardsubstanzen
- Überprüfung von Parametern, die auf die Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS Einfluss haben (Fluss des Trägergases des Gaschromatographen, linearer Bereich der Messung)

### Authentizitätsbewertung von Lavendel-, Lavandin- und Spikölen

- Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat mittels enantio-MDGC-MS
- Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat mittels GC-C-IRMS und GC-P-IRMS
- Ableitung von Authentizitätsprofilen für Lavendelöle
- Anwendung der Methoden auf kommerziell erhältliche Öle

### Authentizitätsbewertung von Anis- und Fenchelölen anhand der $^2\text{H}/^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol

- Bestimmung der Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol mittels GC-C-IRMS und GC-P-IRMS
- Ableiten des Authentizitätsbereichs für *trans*-Anethol in Anis und Fenchelölen
- Anwendung der Methoden auf kommerziell erhältliche Öle

### Authentizitätsbewertung von Kümmelölen

- Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Limonen und Carvon mittels enantio-MDGC-MS
- Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon mittels GC-C-IRMS und GC-P-IRMS
- Anwendung der Methoden auf kommerziell erhältliche Öle

## 2 Allgemeiner Teil

### 2.1 Bestimmung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS

#### 2.1.1 Möglichkeiten der Kalibrierung

Das Isotopenverhältnis eines Analyten wird nicht absolut sondern relativ zu einem Standard gemessen und angegeben. Daher ist die Kalibrierung in der Isotopenmassenspektrometrie von großer Bedeutung, um die Vergleichbarkeit der gemessenen Werte zu gewährleisten.

Grundsätzlich bestehen zwei Möglichkeiten zur Kalibrierung:

1. Einlass eines Referenzgases mit bekanntem Isotopenverhältnis
2. Einspritzen von Standardsubstanzen mit bekanntem Isotopenverhältnis

Die gängige Methode bei der Kopplung des Gaschromatographen bzw. des Elemental Analyzers mit dem Isotopenverhältnismassenspektrometer besteht darin, dass vor und nach dem Eluieren der Analyten eine Folge von Standardgaspulsen eines kalibrierten Referenzgases über einen separaten Einlass in die Ionenquelle geleitet wird.

Referenzgase mit bekannten Isotopenverhältnissen, die über gravimetrische Verfahren hergestellt werden, sind kommerziell erhältlich<sup>31</sup>. Weiterhin stehen Referenzmaterialien der Internationalen Atomenergiebehörde (IAEA) zur Verfügung<sup>32</sup>. Für die Messung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen gibt es z.B. die Referenzmaterialien NBS 22 und IAEA-CH 7. Es handelt sich dabei um ein Öl und eine Polyethylenfolie. Diese Referenzmaterialien lassen sich zur Kalibrierung des Referenzgases heranziehen. Allerdings eignen sie sich nur für die Analyse mittels eines Elemental Analyzers. Derzeit existieren keine internationalen Standards, die zur Kalibrierung mittels GC-IRMS verwendet werden können.

Die beschriebene Vorgehensweise hat den Nachteil, dass mögliche Diskriminierungseffekte des chromatographischen Systems und des Interfaces durch die Kalibrierung nicht berücksichtigt und kompensiert werden. Zur Überwindung dieses Problems gibt es verschiedene Ansätze. Meier-Augenstein entwickelte ein spezielles Einlasssystem für die Bestimmung von Isotopenwerten mittels GC-C-IRMS, bei dem das Referenzgas vor dem Oxidationsreaktor in das System eingelassen wird<sup>33,34</sup>. So ist die gleiche Vorbehandlung von Standard und Probe bezüglich des Interfaces gegeben, allerdings nicht bezüglich des chromatographischen Systems. Eine weitere Möglichkeit zur Kalibrierung eines GC-IRMS-Systems ist der Zusatz von Standardsubstanzen mit bekanntem Isotopenwert zu der zu untersuchenden Probe. Somit durchlaufen Referenzsubstanz und Analyt den gleichen Weg. Allerdings kann es durch Koelution von Referenzsubstanzen und Matrixbestandteilen



der Probe zu Verfälschungen des Isotopenwerts der Referenzsubstanzen kommen. Somit ist dieses Verfahren für komplexe Gemische nur schwer anwendbar.

## 2.1.2 Kalibrierungsstrategien

Zur Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS wurde folgende Möglichkeit der Kalibrierung gewählt. Zunächst wurde das Referenzgas anhand zweier Referenzmaterialien der IAEA über die TC/EA-IRMS-Kopplung kalibriert. Weiterhin wurden die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Tertiärstandards über den TC/EA bestimmt. Bei den Tertiärstandards handelt es sich um hochreine, stabile Verbindungen, die sich zur Gaschromatographie eignen. Als Standards wurden die Verbindungen 5-Nonanon, Menthol, Linalool, Linalylacetat und  $\gamma$ -Decalacton ausgewählt. Die Tertiärstandardmischung wurde je nach Anwendung variiert, so dass sie immer die zu untersuchenden Substanzen der jeweiligen Anwendung enthielt. Die Tertiärstandards dienen zur Überprüfung von Einflüssen des chromatographischen Systems, der Pyrolyse und des Interfaces.

### Kalibrierung des Referenzgases

Das Referenzgas wurde mit den Referenzmaterialien der IAEA NBS 22 und IAEA-CH 7 kalibriert. Die Messungen der Referenzmaterialien wurden über einen längeren Zeitraum durchgeführt, in dem auch der Pyrolysereaktor des TC/EA mehrmals neu gepackt wurde, um zu überprüfen, ob Veränderungen des Systems einen Einfluss auf die bestimmten Isotopenwerte zeigen. Die in **Tab. 5.** wiedergegebenen Werte zeigen, dass die für das Referenzgas über die zwei verschiedenen IAEA-Referenzmaterialien ermittelten Werte gut übereinstimmen und sich die Referenzmaterialien auch über einen längeren Zeitraum mit der erforderlichen Präzision (Standardabweichung < 3 ‰) messen lassen.

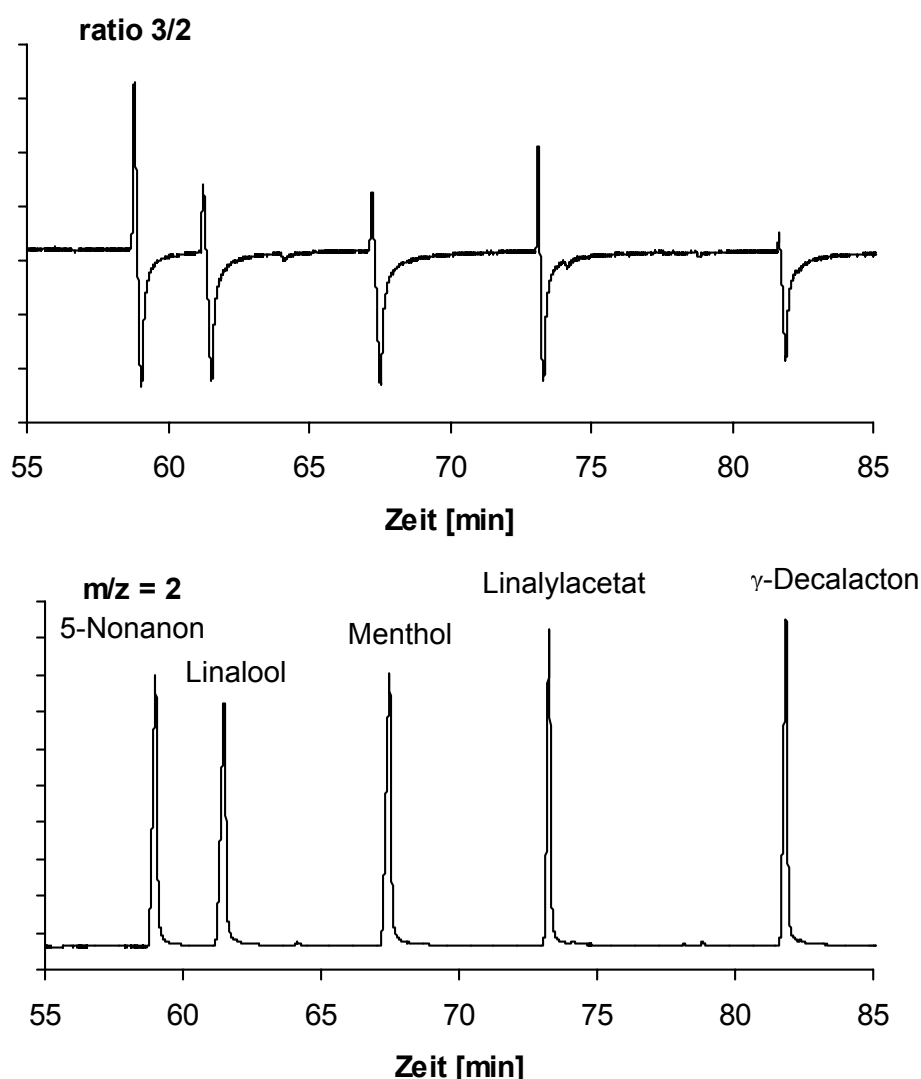
Das Isotopenverhältnis des Referenzgases ergibt sich als Mittelwert aus den Messungen der beiden Referenzmaterialien NBS 22 und IAEA-CH 7.

**Tab. 5.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wert [‰] des Referenzgases

|   | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | n  |
|---|---|----|
| Isotopenverhältnis des Referenzgases<br>(bestimmt über IAEA-CH 7) | $-216,5 \pm 2,4$                          | 60 |
| Isotopenverhältnis des Referenzgases<br>(bestimmt über NBS 22)    | $-218,5 \pm 2,5$                          | 80 |

### 2.1.3 Vergleich der über TC/EA-IRMS und GC-P-IRMS bestimmten Isotopenverhältnisse

Um die über den TC/EA und die GC-P-IRMS-Kopplung bestimmten Isotopenverhältnisse zu vergleichen, wurden die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von fünf Standardsubstanzen zunächst über den Elemental Analyzer bestimmt. Es wurden die Substanzen 5-Nonanon, Menthol, Linalool, Linalylacetat und  $\gamma$ -Decalacton verwendet. Eine Mischung dieser Substanzen wurde dann mittels GC-P-IRMS untersucht. **Abb. 8.** zeigt ein Chromatogramm der Mischung der Standardsubstanzen. Im oberen Teil der Abbildung ist das Verhältnis der Masse 3 zur Masse 2 aufgetragen und im unteren Teil die Massenspur 2.



**Abb. 8.** GC-P-IRMS-Chromatogramm der Tertiärstandardmischung

Der Vergleich der über TC/EA-IRMS und GC-P-IRMS bestimmten Isotopenwerte der Tertiärstandards zeigte zunächst keinerlei Übereinstimmung. Die über das GC-P-IRMS-System bestimmten Werte lagen zwischen 20 und 100 ‰ negativer als die

über den TC/EA bestimmten Werte (**Tab. 6.**). Dabei war der Wert des zuerst eluierenden Peak am stärksten betroffen.

**Tab. 6.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$  Werte [‰] der Tertiärstandards ermittelt über TC/EA-IRMS und GC-P-IRMS mit und ohne Konditionierung des Pyrolysereaktors

| Substanz             | TC/EA-IRMS                  | GC-P-IRMS   | GC-P-IRMS  |
|----------------------|-----------------------------|---|--|
|                      | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | ohne Konditionierung<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | mit Konditionierung<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| 5-Nonanon            | $-89 \pm 3$                 | -247  | -95  |
| Menthol              | $-242 \pm 3$                | -260  | -239   |
| Linalool             | $-190 \pm 4$                | -242  | -197   |
| Linalylacetat        | $-181 \pm 4$                | -228  | -181   |
| $\gamma$ -Decalacton | $-191 \pm 3$                | -210  | -187   |

Die über das GC-P-IRMS-System bestimmten Isotopenverhältnisse blieben auch nach bis zu 100 Messungen deutlich negativer als die über den Elemental Analyser bestimmten Werte. Folglich handelt es sich nicht nur um ein Phänomen, das sich nach dem „Einlaufen“ des Pyrolysereaktors legt.

### Konditionierung des Pyrolysereaktors

Burgoyne und Hayes beschreiben, dass bei der Bestimmung von  $^2H/^1H$ -Isotopenverhältnissen durch die Verwendung eines Pyrolysereaktors, in dem sich eine Graphitschicht befindet, bessere Peakformen und Wiederholbarkeiten erzielt wurden. Die Graphitschicht wurde durch Einleiten von Propan in den heißen Reaktor erzeugt<sup>35</sup>.

Durch wiederholtes Injizieren von Hexan (dreimal) wurde eine Kohlenstoffschicht in den Pyrolysereaktor eingebracht. Die nach dieser Konditionierung für die Tertiärstandards ermittelten Isotopenwerte stimmten unter Berücksichtigung der Standardabweichungen gut mit denen überein, die über den Elemental Analyser bestimmt wurden (vgl. **Tab. 6.**). Nach ungefähr 80 Messungen der Tertiärstandard-Mischung zeigten die Werte einen Trend zu negativeren Werten, d. h. die Werte wichen deutlich von denen ab, die über den Elemental Analyser bestimmt wurden. Nach Wiederholung der Konditionierung mit Hexan, stimmten die Werte wieder mit denen über den Elemental Analyser bestimmten überein. Es zeigt sich somit, dass sich mittels GC-P-IRMS nur nach einer Konditionierung des Pyrolysereaktors (Kohlenstoffschicht im Reaktor) Isotopenverhältnisse für die genannten Substanzen ermitteln lassen, die mit denen übereinstimmen, die über den Elemental Analyser bestimmt wurden. Offensichtlich ist ein Kohlenstoffvorrat in Pyrolysereaktor notwendig, um optimale Bedingungen für die Pyrolyse zu schaffen und somit richtige Isotopenverhältnisse zu ermitteln. Möglicherweise ist die Notwendigkeit und Häufigkeit der Konditionierung von der Art der zu messenden Substanzen abhängig.

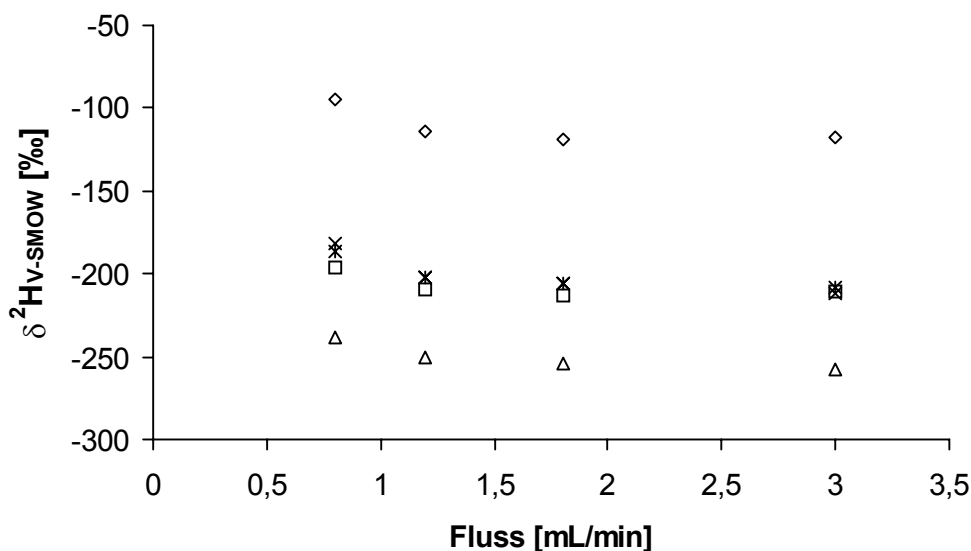
Die Konditionierung durch Einspritzen von Hexan muss in regelmäßigen, relativ kurzen Abständen wiederholt werden. Außerdem tritt nach einiger Zeit das Problem auf, dass der Reaktor sich zusetzt und ausgetauscht werden muss. Um diese Probleme zu umgehen, wurde in der vorliegenden Arbeit eine Konditionierung mit Methan realisiert. Dazu wurde Methan für 5 min bei Betriebstemperatur in Gegenrichtung durch den Reaktor geleitet. Diese Methode zur Konditionierung zeigt den gleichen positiven Effekt auf die Isotopenwerte, ist aber deutlich effektiver. Offensichtlich bildet sich durch die Konditionierung mit Methan eine gleichmäßigere Kohlenstoffschicht im Reaktor aus. Die Konditionierung ist weniger häufig erforderlich und der Reaktor setzt sich nicht oder zumindest deutlich seltener zu.

### 2.1.4 Einfluss von GC-Bedingungen auf die Bestimmung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS

Der Trägergasfluss des Gaschromatographen hat Einfluss auf die Richtigkeit der Bestimmung von  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten mittels GC-P-IRMS. Aus **Tab. 7.** geht hervor, dass nur die bei einem Trägergasfluss von 0,8 mL/min bestimmten Isotopenverhältnisse der Tertiärstandards unter Berücksichtigung der Standardabweichungen (GC-P-IRMS-Messung  $s = 1\text{--}3\text{‰}$ ) mit denen übereinstimmen, die über den Elemental Analyzer bestimmt wurden. Wie in **Abb. 9.** dargestellt, liegen die bestimmten Isotopenverhältnisse bei einem höheren Trägergasfluss deutlich negativer.

**Tab. 7.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  Werte [‰] der Tertiärstandards in Abhängigkeit des Trägergasflusses des Gaschromatographen

| Trägergasfluss<br>[mL/min]                      | 5-Nonanon<br>[‰] | Linalool<br>[‰] | Menthol<br>[‰] | Linalylacetat<br>[‰] | $\gamma$ -Decalacton<br>[‰] |
|---|------------------|-----------------|----------------|----------------------|-----------------------------|
| $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ (GC-P-IRMS)  |                  |                 |                |                      |                             |
| 0,8   | -95              | -197            | -239           | -181                 | -187                        |
| 1,2   | -114             | -210            | -251           | -202                 | -203                        |
| 1,8   | -119             | -213            | -254           | -206                 | -205                        |
| 3,0   | -118             | -211            | -258           | -212                 | -208                        |
| $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ (TC/EA-IRMS) |                  |                 |                |                      |                             |
|   | $-89 \pm 3$      | $-190 \pm 4$    | $-242 \pm 3$   | $-181 \pm 4$         | $-191 \pm 3$                |



◇ 5-Nonanon □ Linalool △ Menthol × Linalylacetat \*  $\gamma$ -Decalacton

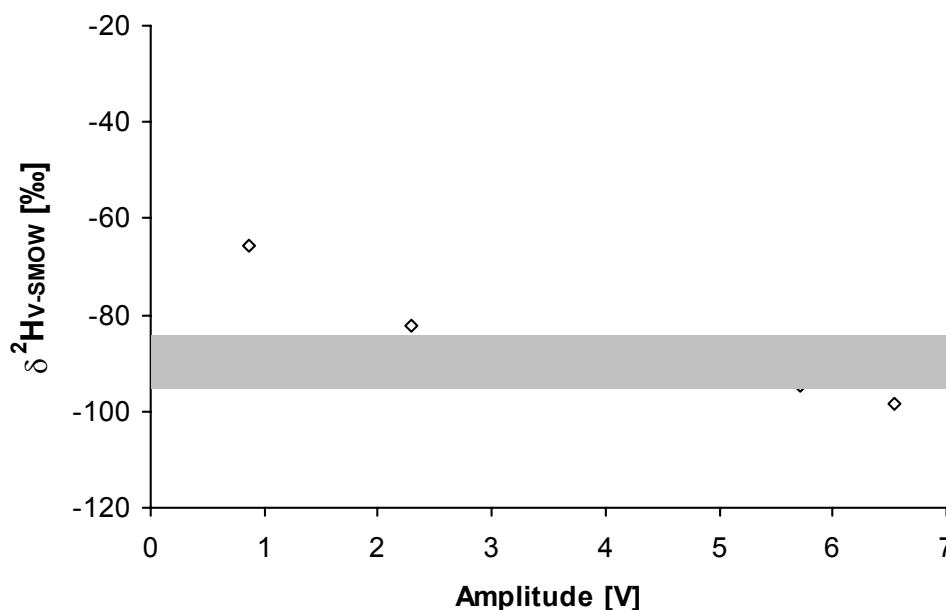
**Abb. 9.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte in Abhängigkeit des Trägergasflusses des Gaschromatographen

Die Abhängigkeit der Isotopenverhältnisse vom Trägergasfluss des Gaschromatographen ist durch die Bauweise des Heizers bedingt, der den Pyrolysereaktor heizt. Die heiße Zone des Reaktors beträgt nur 6 cm. Bei einem niedrigen Trägergasfluss ist die Verweilzeit der Substanz in der heißen Zone höher, so dass die Pyrolyse erst damit vollständig ist.

Ein weiterer wichtiger Parameter für die Richtigkeit der Messung ist der lineare Bereich der Methode. Hilkert et al. zeigten, dass bei der Bestimmung der  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte von Methan mittels GC-P-IRMS im Bereich von 1-5 V ( $m/z = 2$ ) keine Abhängigkeit der bestimmten Werte von der Amplitude des GC-Peaks vorhanden ist<sup>26</sup>. Schreier et al. ermittelten den linearen Bereich für Benzaldehyd für Konzentrationen größer 0,6  $\mu\text{g on column}$ <sup>36</sup>.

Zur Ermittlung des linearen Bereichs wurde eine Mischung der Tertiärstandards (5-Nonanon, Linalool, Menthol, Linalylacetat,  $\gamma$ -Decalacton) in verschiedenen Konzentrationen vermessen. **Abb. 10.** zeigt die Abhängigkeit der ermittelten  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte von der Amplitude des GC-Peaks am Beispiel der Substanz 5-Nonanon. Mit Erhöhung der Probenmenge werden die ermittelten  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte negativer. Der grauunterlegte Bereich in **Abb. 10.** zeigt den Bereich, in dem die mittels GC-P-IRMS bestimmten Isotopenverhältnisse gut mit denen über den TC/EA ermittelten übereinstimmen. Die Auftragung der  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte gegen die Peakintensität zeigt bei den anderen Substanzen die gleiche Abhängigkeit wie für 5-Nonanon dargestellt. Oberhalb einer Amplitude von 2,5 - 3 V (entspricht > 0,3  $\mu\text{g}$  Substanz on column) stimmen die ermittelten Werte gut mit denen über den Elemental Analyzer bestimmten überein. Tendenziell werden die bestimmten Werte

mit einer größeren Amplitude negativer. Der optimale Messbereich für die getesteten Substanzen liegt bei einer Amplitude zwischen 3 und 6 V.



**Abb. 10.** Abhängigkeit der  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte von 5-Nonanon von der Amplitude des GC-Peaks, grau unterlegter Bereich  $\delta^2H_{V-SMOW}$  (TC/EA-IRMS)  $\pm 5$  ‰

### 2.1.5 Geeignete Bedingungen zur Messung von $^2H/^1H$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS

Wie die dargestellten Ergebnisse zeigen, werden die mittels GC-P-IRMS bestimmten  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte von verschiedenen Parametern beeinflusst. Daher sind geeignete Bedingungen zu wählen, um zu richtigen Messergebnissen zu gelangen. Die Kalibrierung des Referenzgases über den Elemental Analyzer ist mit den von der IAEA erhältlichen Referenzsubstanzen IAEA-CH 7 und NBS 22 möglich. Die Substanzen lassen sich über einen langen Zeitraum stabil messen. Allerdings reicht es für Messungen mittels GC-P-IRMS nicht aus, nur gegen das kalibrierte Referenzgas zu messen. Da keine Referenzsubstanzen erhältlich sind, die für die Gaschromatographie geeignet sind, ist es notwendig eigene Tertiärstandards einzusetzen. Bei den Tertiärstandards sollte es sich um mehrere chemisch reine Substanzen unterschiedlicher Funktionalität handeln. Am besten sollten die jeweils zu analysierenden Komponenten in der Mischung enthalten sein. Mit einer geeigneten Tertiärstandard-Mischung kann dann die Stabilität, Linearität und Richtigkeit der Bestimmung der  $^2H/^1H$ -Isotopenverhältnisse mittels GC-P-IRMS überprüft werden. Wie in Kapitel 2.1.3 beschrieben wurde, lassen sich die Isotopenverhältnisse der gewählten Tertiärstandards mittels GC-P-IRMS ohne eine Konditionierung des Pyrolysereaktors nicht richtig bestimmen. Die Notwendigkeit einer erneuten Konditionierung kann ebenfalls anhand der Tertiärstandardmischung überprüft werden.

Weiterhin hat der Trägergasfluss und die Substanzmenge Einfluss auf die Richtigkeit der bestimmten Isotopenverhältnisse. Wie in Kapitel 2.1.4 gezeigt werden konnte, ist es nur mit einem niedrigen Trägergasfluss (0,8 mL/min) möglich, richtige Ergebnisse zu erzielen. Weiterhin ist eine Substanzmenge von größer als 0,3 µg on column notwendig.

Wie gezeigt werden konnte, haben verschiedene Parameter Einfluss auf den bestimmten Isotopenwert. Daher ist es zwischen den Messungen der Proben notwendig, die Richtigkeit der Messungen regelmäßig anhand einer Tertiärstandard-Mischung zu überprüfen. Dabei müssen die mittels GC-P-IRMS bestimmten  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse mit denen übereinstimmen, die über den Elemental Analyzer ermittelt wurden. Hierbei sind die Standardabweichungen (TC/EA-IRMS i.d.R. 3 ‰, GC-P-IRMS  $\leq 3$  ‰) zu berücksichtigen, so dass die bestimmten Werte um maximal 6 ‰ von den TC/EA-Ergebnissen abweichen dürfen.

Die dargestellte Vorgehensweise zur Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS liefert zuverlässige Ergebnisse, da alle möglichen Einflüsse auf die bestimmten Werte überprüft werden. Anhand der Stabilität und Richtigkeit der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der Tertiärstandards können mögliche Einflüsse der chromatographischen Trennung sowie der Pyrolyse ausgeschlossen werden. Vor diesem Hintergrund ist es wünschenswert, dass in Zukunft auch internationale Standards, die für die Kalibrierung mittels GC-IRMS herangezogen werden können, zur Verfügung stehen.

## 2.2 Authentizität von Lavendelölen, Lavandinölen und Spikölen

### 2.2.1 Einleitung

Sowohl Lavendel (*Lavandula angustifolia* MILLER) als auch die Lavandinpflanze (*Lavandula angustifolia* MILLER x *Lavandula latifolia*) und der Große Speik (*Lavandula latifolia*) gehören zu der Familie der Lippenblütler (Lamiaceae). Alle genannten Lavandula-Arten kommen vorwiegend in den Mittelmeerländern (insbesondere Frankreich) vor. Die aus den Lavandula-Arten gewonnenen ätherischen Öle Lavendel-, Lavandin- und Spiköl werden in der Parfüm- und Kosmetikindustrie, insbesondere auch zur Parfümierung von Seifen verwendet. Der Ölgehalt der Lavandinpflanze – Kreuzung des Echten Lavendels mit dem Großen Speik – ist mit 3 – 6 % deutlich höher als der des Lavendels (0,5 – 1 %) <sup>37</sup>. Lavandinöl wird in den Qualitäten „grosso“, „super“ und „abrialis“ gehandelt; Lavendelöle in den Qualitäten „Mont Blanc“ und „Barême“. Als qualitätsgebende Komponente gilt Linalylacetat. Gemäß Europäischem Arzneibuch ist Lavendelöl das durch Destillation mit Wasserdampf gewonnene ätherische Öl aus den frischen Blütenständen von *Lavandula angustifolia* MILLER (*Lavandula officinalis* Chaix) <sup>3</sup>. Die Herkunft wird also auf die Stammpflanze spezifiziert und schließt andere natürliche Quellen (z. B. die genannten Lavandula-Arten) sowie synthetische Quellen aus. Gemäß Europäischem Arzneibuch ist zur Prüfung auf Reinheit unter anderem die gaschromatographische Identifizierung und Quantifizierung bestimmter Komponenten vorgeschrieben (vgl. **Tab. 8.**) <sup>3</sup>.

**Tab. 8.** Prozentgehalte der Komponenten von Lavendelöl gemäß Europäischem Arzneibuch

| Substanz         | Gehalt<br>[‰] |
|------------------|---------------|
| Limonen          | < 1,0         |
| 1,8-Cineol       | < 2,5         |
| 3-Octanon        | < 2,5         |
| Campher          | < 1,2         |
| Linalool         | 20,0 – 45,0   |
| Linalylacetat    | 25,0 – 46,0   |
| Terpinen-4-ol    | 1,2 – 6,0     |
| Lavandulylacetat | > 1,0         |
| Lavandulol       | > 0,1         |
| α-Terpineol      | < 2,0         |



Über die Quantifizierung der genannten Komponenten lässt sich eine Verfälschung des echten Lavendelöls mit anderen Lavandula-Arten über erhöhte Campher- und 1,8-Cineolgehalte nachweisen. Diese Substanzen kommen im Lavendelöl nur als Minorkomponenten vor, in Lavandin- und Spikölen in höheren Konzentrationen<sup>38,39</sup>. Neben der Möglichkeit der Verfälschung von Lavendelölen mit Ölen anderer Lavandula-Arten können synthetisches Linalool und/oder Linalylacetat zugesetzt werden. Da sowohl Linalool als auch Linalylacetat in Lavendelölen sowie auch in Lavandin- und Spikölen natürlich in hohem (*R*)-Enantiomerenüberschuss vorkommen, konnte gezeigt werden, dass die enantioselektive Analyse dieser Hauptkomponenten zur Authentizitätsbewertung von Lavendelölen herangezogen werden kann<sup>40,41,42</sup>.

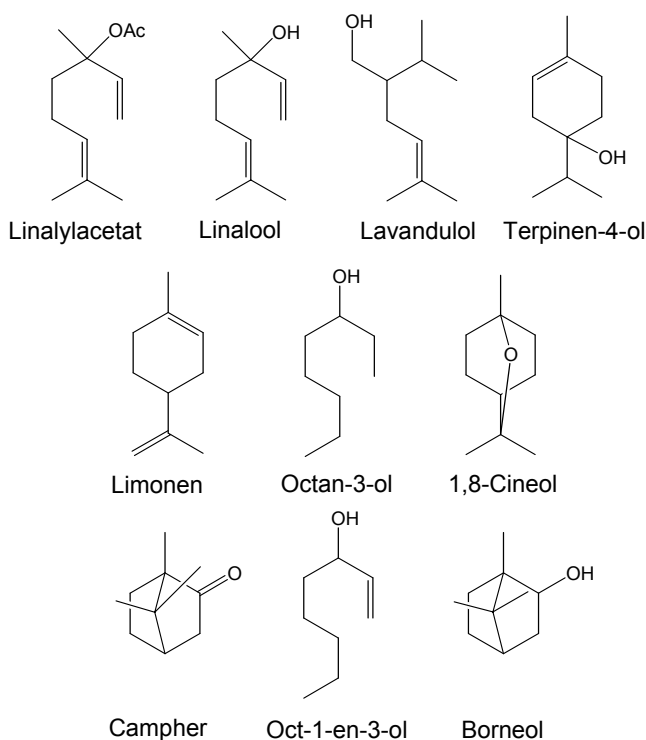
Eine weitere Methode, die zur Authentizitätsbewertung von Lavendelölen herangezogen werden kann, ist die Isotopenverhältnisanalytik. Die Bestimmung von  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werten von Linalool wurde von einigen Autoren im Hinblick auf die Echtheitsbewertung von Lavendelölen überprüft<sup>43,44,45</sup>. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen von natürlichem und synthetischem Linalool festgestellt werden. Hanneguella et al. konnten mittels SNIF-NMR aufgrund der Deuteriumisotopenverteilung zwischen synthetischem und natürlichem Linalool differenzieren. Culp et al. zeigten mittels offline IRMS, dass sich die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von synthetischem ( $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -196 \pm 59 \text{ ‰}$ ) und natürlichem Linalool ( $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -297 \pm 26 \text{ ‰}$ ) deutlich voneinander unterscheiden<sup>43</sup>.

Auf Basis dieser Ergebnisse erscheint es möglich, aufgrund der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalool und Linalylacetat eine Authentizitätsbewertung von Lavendelölen vorzunehmen. Daher wird der authentische Bereich der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalool und Linalylacetat in Lavendelölen mittels GC-P-IRMS sowie der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte mittels GC-C-IRMS bestimmt. Weiterhin werden Handelsproben sowie synthetische Linalool und Linalylacetat-Standards untersucht, um zu überprüfen, inwieweit sich diese Methoden zur Authentizitätsbewertung eignen. Die Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat der authentischen und kommerziellen Proben werden ebenfalls bestimmt, um die Ergebnisse der herkömmlichen Methode zur Authentizitätskontrolle mit der potentiellen neuen Methode zu vergleichen.

## 2.2.2 Identifizierung und Quantifizierung der Inhaltsstoffe

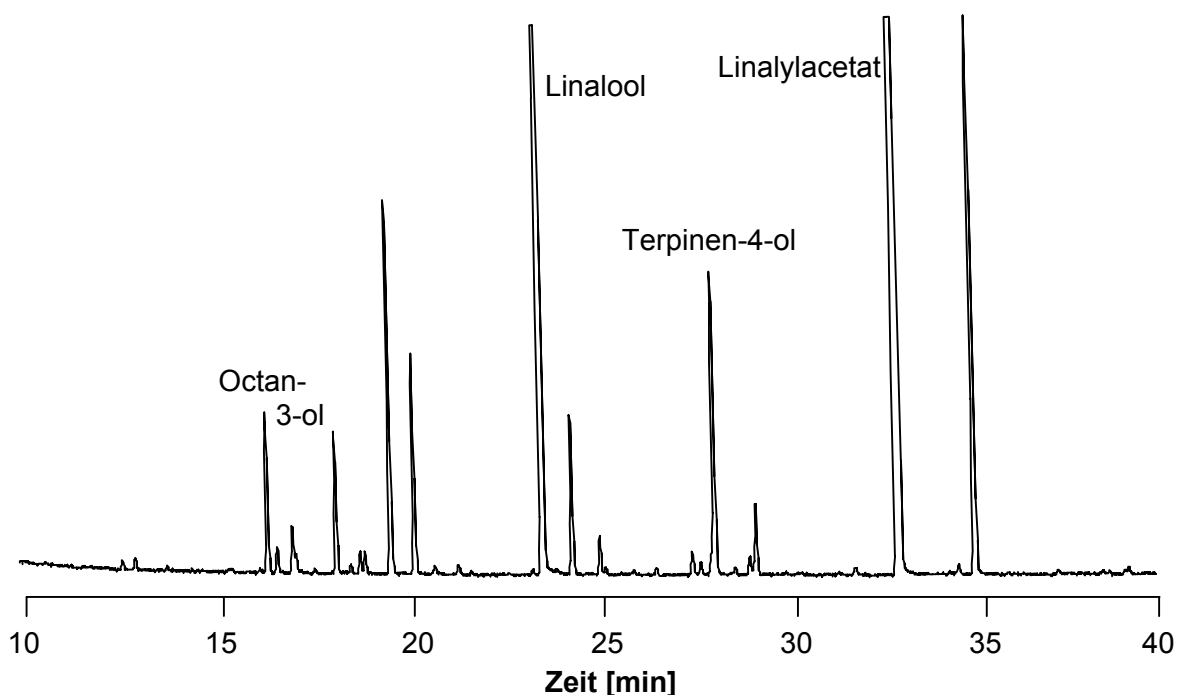
Bei den untersuchten authentischen Proben handelt es sich um Lavendel- und Spiköle, die aus definiertem Pflanzenmaterial mittels Dampfdestillation gewonnen wurden. Das Pflanzenmaterial stammt aus verschiedenen Botanischen Gärten. Weiterhin wurden kommerziell erhältliche Lavendel-, Lavandin- und Spiköle verschiedener Hersteller analysiert. Alle untersuchten kommerziellen Öle waren von den Herstellern als natürliche Lavendel-, Lavandin- und Spiköle ausgelobt.

Die Identifizierung der Komponenten der Lavendel-, Lavandin- und Spiköle erfolgte mittels GC-MS über den Vergleich der Retentionszeiten und Massenspektren mit denen von Standardsubstanzen. Die Öle wurden auf die in **Abb. 11.** dargestellten Komponenten untersucht. Die Quantifizierung ist insbesondere für die Komponenten Campher und 1,8-Cineol interessant, da der Gehalt dieser Komponenten in Lavendelölen sehr gering ist und in Spik- sowie Lavandinölen deutlich höher liegt.



**Abb. 11.** Untersuchte Komponenten in Lavendel-, Lavandin- und Spikölen

In **Abb. 12.** ist das GC-MS-Chromatogramm eines mittels Dampfdestillation gewonnenen Lavendelöls dargestellt. Die Komponenten Oct-1-en-3-ol, Limonen, 1,8-Cineol und Lavandulol, die in geringen Gehalten gefunden wurden, sind in der Abbildung nicht gekennzeichnet.



**Abb. 12.** GC-MS-Chromatogramm eines mittels Dampfdestillation gewonnenen Lavendelöls

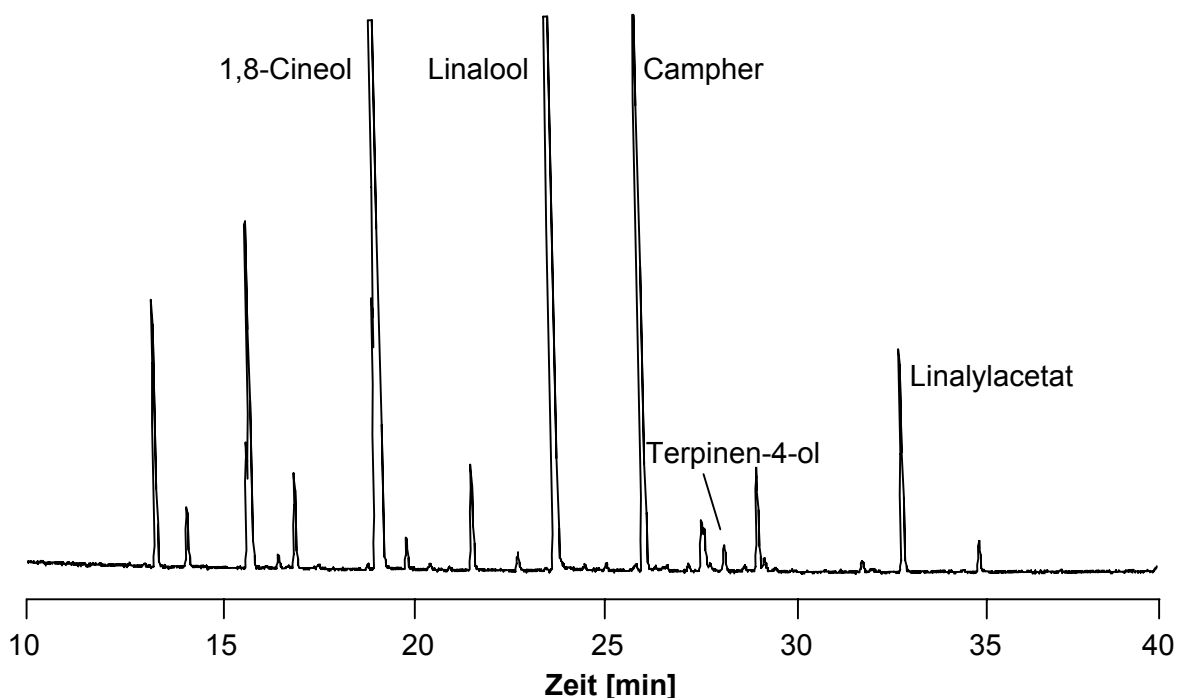
**Tab. 9.** Flächenprozent der Komponenten in Lavendel-, Lavandin- und Spikölen (EuAB Europäisches Arzneibuch<sup>3</sup>)

|                             | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Campher<br>[%] | Lavan-<br>dulol<br>[%] | Terpinen-<br>4-ol<br>[%] | Linalyl-<br>acetat<br>[%] |
|-----------------------------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|
| EuAB                        | < 1,0          | < 2,5             | 20,0 – 45,0     | < 1,2          | > 0,1                  | 1,2 – 6,0                | 25,0 – 46,0               |
| authentische<br>Lavendelöle | < 1,9          | 0,1 – 2,3         | 7,6 – 61,4      | n.n.           | 0,1 – 1,8              | 0,1 – 15,1               | 24,1 – 81,4               |
| kommerzielle<br>Lavendelöle | < 4,5          | < 4,3             | 15,3 – 56,2     | < 5,3          | < 0,6                  | < 6,3                    | 28,0 – 77,4               |
| authentische<br>Spiköle     | 2,2 – 3,8      | 41,7 – 48,0       | 25,2 – 36,7     | 8,7 – 9,3      | 0,1                    | 0,1 – 0,3                | 0,1 – 1,9                 |
| kommerzielle<br>Spiköle     | < 3,6          | 27,3 – 46,3       | 33,4 – 53,7     | 6,7 – 20,7     | n.n.                   | < 0,4                    | < 0,6                     |
| kommerzielle<br>Lavandinöle | < 3,2          | 1,9 – 14,2        | 34,1 – 47,5     | 2,8 – 9,6      | < 0,3                  | < 3,8                    | 26,3 – 51,2               |

Wie aus **Tab. 9.** ersichtlich ist, wurden für die authentischen Lavendelöle geringe 1,8-Cineol- und Camphergehalte ermittelt. Die bestimmten Gehalte stimmen mit den Forderungen der Monographie des Europäischen Arzneibuchs überein. Der Lavandulolgehalt liegt bei allen Proben über dem Mindestgehalt, der gefordert ist. Der Limonengehalt liegt bei den meisten untersuchten Proben unter 0,8 %. Nur bei einer Probe liegt er mit 1,9 % über dem Maximalwert, den das Arzneibuch vorgibt.

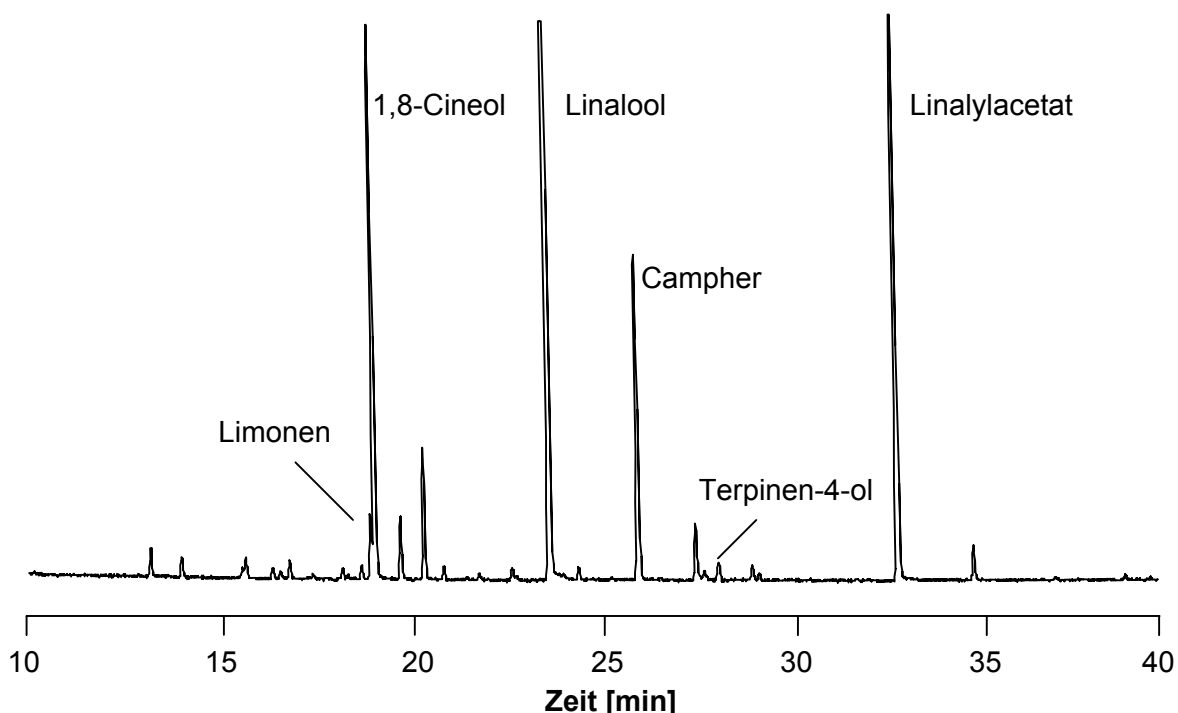
Die im Arzneibuch angegebenen Bereiche für die Komponenten Linalool und Linalylacetat sowie für Terpinen-4-ol werden bei den Proben sowohl unter- als auch überschritten. Der Anteil der beiden Hauptkomponenten Linalool und Linalylacetat beträgt bei den authentischen Lavendelölen zwischen 59,1 und 90,6 %, wobei er bei einem Großteil der Proben zwischen 80 und 90 % liegt.

Die Spiköle weisen einen deutlich höheren Gehalt an Campher und 1,8-Cineol auf. Weiterhin ist der Limonengehalt leicht erhöht sowie der Linalylacetatgehalt (< 1,8 %) sehr gering. Die 1,8-Cineolgehalte liegen bei den authentischen Spikölen bei 41,7 und 48,0 % und bei den kommerziellen Ölen zwischen 27,3 und 46,3 %. Die Camphergehalte betragen für die authentischen Spiköle 8,7 und 9,3 % und liegen für die kommerziellen Öle zwischen 6,7 und 20,7 %. Aufgrund der Gehalte dieser beiden Komponenten lassen sich Spiköle eindeutig von Lavendelölen unterscheiden. **Abb. 13.** zeigt das GC-MS-Chromatogramm eines Spiköls.



**Abb. 13.** GC-MS-Chromatogramm eines mittels Dampfdestillation gewonnenen Spiköls

Bei den untersuchten kommerziellen Lavandinölen zeigt sich ebenfalls ein erhöhter Campher- und 1,8-Cineolgehalt, dabei liegen die Gehalte mit 1,9 – 14,2 % für 1,8-Cineol und 2,8 – 9,6 % für Campher über denen der echten Lavendelöle aber nicht so hoch wie die der Spiköle. Die Gehalte von Linalool und Linalylacetat in den untersuchten Lavandinölen liegen im selben Bereich wie die der Lavendelöle. **Abb. 14.** zeigt ein Chromatogramm eines kommerziellen Lavandinöls. Die Komponenten Oct-1-en-3-ol und Lavandulol, die in geringen Gehalten gefunden wurden, sind in der Abbildung nicht gekennzeichnet.



**Abb. 14.** GC-MS-Chromatogramm eines kommerziellen Lavandinöls

Die Zusammensetzung der kommerziellen Lavendelöle in **Tab. 9.** zeigt, dass die Limonen-, 1,8-Cineol- und Camphergehalte einiger untersuchter Proben nicht denen entsprechen, die im Arzneibuch gefordert sind. In **Tab. 10.** sind die kommerziellen Öle, die den Anforderungen des Arzneibuchs bzw. den für die authentischen Proben ermittelten Zusammensetzungen nicht entsprechen, im einzelnen aufgeführt. Die jeweils fettgedruckten Gehalte entsprechen nicht den Anforderungen des Arzneibuchs. Die erhöhten Gehalte von Limonen, 1,8-Cineol und/oder Campher deuten auf einen Verschnitt mit Spik- oder Lavandinölen hin.

**Tab. 10.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der kommerziellen Lavendelöle (fettgedruckte Gehalte entsprechen nicht den Anforderungen gemäß Europäischem Arzneibuch<sup>3</sup>)

| Probe | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Campher<br>[%] | Lavandulol<br>[%] | Terpinen-4-ol<br>[%] | Linalylacetat<br>[%] |
|-------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| EuAB  | < 1,0          | < 2,5             | 20,0 – 45,0     | < 1,2          | > 0,1             | 1,2 – 6,0            | 25,0 – 46,0          |
| LK1   | <b>4,5</b>     | 2,2               | 48,6            | n.n.           | n.n.              | n.n.                 | 41,0                 |
| LK2   | 0,6            | 1,9               | 42,7            | <b>2,8</b>     | n.n.              | 0,3                  | 45,5                 |
| LK3   | <b>3,3</b>     | 1,7               | 48,3            | 0,1            | n.n.              | n.n.                 | 43,9                 |
| LK4   | <b>4,0</b>     | 2,4               | 42,0            | n.n.           | n.n.              | n.n.                 | 45,8                 |
| LK6   | 0,3            | <b>4,3</b>        | 56,2            | <b>5,3</b>     | 0,2               | 0,3                  | 28,0                 |
| LK8   | 0,7            | <b>3,6</b>        | 37,6            | 1,5            | n.n.              | 0,6                  | 50,5                 |
| LK9   | <b>3,7</b>     | 2,0               | 44,7            | n.n.           | n.n.              | n.n.                 | 46,6                 |
| LK19  | n.n.           | 1,1               | 43,7            | <b>1,6</b>     | n.n.              | 0,5                  | 48,4                 |
| LK21  | 0,5            | <b>2,9</b>        | 48,2            | <b>2,8</b>     | n.n.              | 0,4                  | 41,1                 |

Die Quantifizierung der Komponenten des Lavendelöls zeigt, dass die für die authentischen Lavendelöle ermittelten Gehalte für Limonen, Campher, Lavandulol und 1,8-Cineol mit den Vorgaben des Europäischen Arzneibuchs übereinstimmen. Die Angaben der Bereiche der Linalool-, Linalylacetat- und Terpinen-4-ol-gehalte des Arzneibuchs sind sehr eng gefasst. Für die untersuchten authentischen Lavendelöle wurden für die Gehalte dieser Komponenten weitere Bereiche gefunden. Der Nachweis erhöhter Gehalte an Campher bzw. 1,8-Cineol ist als Hinweis auf einen Verschnitt von Lavendelölen zu deuten. Eine schlüssige Beweisführung kann über die Quantifizierung der Komponenten jedoch im Regelfall nicht zwingend abgeleitet werden.

### 2.2.3 Enantioselektive Analyse von Linalool und Linalylacetat mittels enantio-MDGC-MS

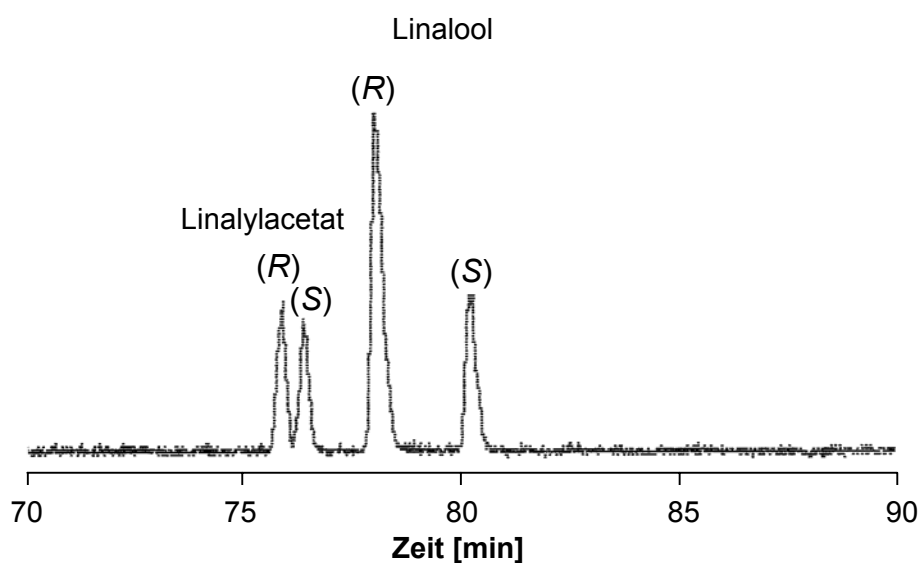
Die Enantiomerentrennung der Hauptkomponenten Linalool und Linalylacetat erfolgte mittels enantio-MDGC-MS. Dabei wurde Heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin als chirale stationäre Phase eingesetzt.

Sowohl (*R*)-Linalylacetat als auch (*R*)-Linalool findet sich in allen untersuchten, mittels Dampfdestillation entsprechend GMP (Good Manufacturing Practice) gewonnenen authentischen Lavendel- und Spikölen in einem hohen Überschuss (> 99%, bzw. > 98%). Zur Bewertung der Enantiomerenverhältnisse der kommerziellen Lavendelöle wurden die von Kreis et al. aufgestellten Bewertungskriterien herangezogen (vgl. **Tab. 11.**)<sup>42</sup>.

**Tab. 11.** Enantiomerenreinheit [%] von Linalool und Linalylacetat zur Beurteilung der Authentizität von Lavendelölen

| Substanz                   | Enantiomerenreinheit [%] |            |            |
|----------------------------|--------------------------|------------|------------|
|                            | authentisch              | verdächtig | verfälscht |
| ( <i>R</i> )-Linalylacetat | > 98                     | 98 – 95    | < 95       |
| ( <i>R</i> )-Linalool      | > 94                     | 94 – 85    | < 85       |

Auf Grundlage dieser Bewertungskriterien sind einige der untersuchten kommerziell erhältlichen Lavendelöle als verfälscht zu beurteilen, während alle untersuchten kommerziellen Lavandin- und Spiköle als authentisch zu bewerten sind. **Abb. 15.** zeigt die Enantiomerentrennung von Linalool und Linalylacetat eines kommerziellen, verfälschten Lavendelöls.



**Abb. 15.** Enantiomerentrennung von Linalool und Linalylacetat eines kommerziellen Lavendelöls

Die Enantiomerenverhältnisse der eindeutig als verfälscht einzustufenden Öle sind in **Tab. 12.** aufgeführt.

**Tab. 12.** Enantiomerenverhältnisse [%] der als verfälscht zu beurteilenden kommerziell erhältlichen Lavendelöle

| Probe | Linalylacetat |      | Linalool |      |
|-------|---------------|------|----------|------|
|       | (R)           | (S)  | (R)      | (S)  |
|       | [%]           | [%]  | [%]      | [%]  |
| LK1   | 52,9          | 47,1 | 70,7     | 29,3 |
| LK3   | 55,7          | 44,3 | 55,5     | 44,5 |
| LK4   | 51,8          | 48,2 | 62,0     | 38,0 |
| LK7   | 52,0          | 48,0 | 69,7     | 30,3 |
| LK8   | 80,7          | 19,3 | > 99     | < 1  |
| LK9   | 53,3          | 46,7 | 60,8     | 39,2 |
| LK10  | 91,4          | 8,6  | 87,5     | 12,5 |
| LK11  | 86,9          | 13,1 | 91,4     | 8,6  |

## 2.2.4 Isotopenmassenspektrometrische Analyse

### 2.2.4.1 Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat mittels GC-C-IRMS

Die unterschiedlichen Gewinnungsmethoden der ätherischen Öle (Dampfdestillation und Diethyletherextraktion), die insbesondere im Hinblick auf die Bestimmung von  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werten eingesetzt wurden (vgl. 2.2.4.2), zeigen erwartungsgemäß keinen Einfluss auf die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte.

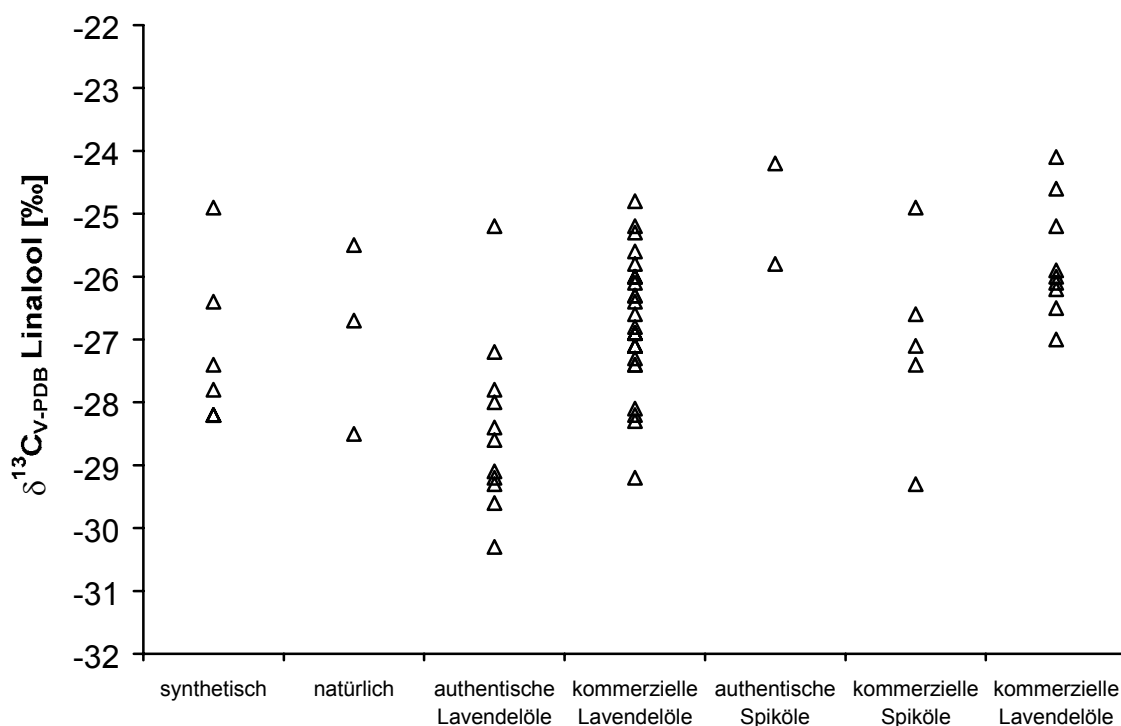
In **Tab. 13.** sind die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche von Linalool der synthetischen und natürlichen Standards\* sowie der authentischen und kommerziellen Lavendel-, Lavandin- und Spiköle aufgeführt. Die Einzelwerte aller Proben sind in **Abb. 16.** dargestellt.

**Tab. 13.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] von Linalool

| Linalool                 | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche<br>[‰] | n  |
|--------------------------|---|----|
| synthetisch              | -24,9 – -28,4   | 7  |
| natürlich                | -25,5 – -28,5   | 3  |
| authentische Lavendelöle | -25,2 – -30,3   | 11 |
| kommerzielle Lavendelöle | -24,8 – -29,2   | 26 |
| authentische Spiköle     | -24,2 – -25,8   | 2  |
| kommerzielle Spiköle     | -24,9 – -29,3   | 5  |
| kommerzielle Lavandinöle | -24,1 – -26,5   | 9  |

\* Die Angaben natürlich bzw. synthetisch beziehen sich auf die Auslobung oder die Auskunft der Hersteller.





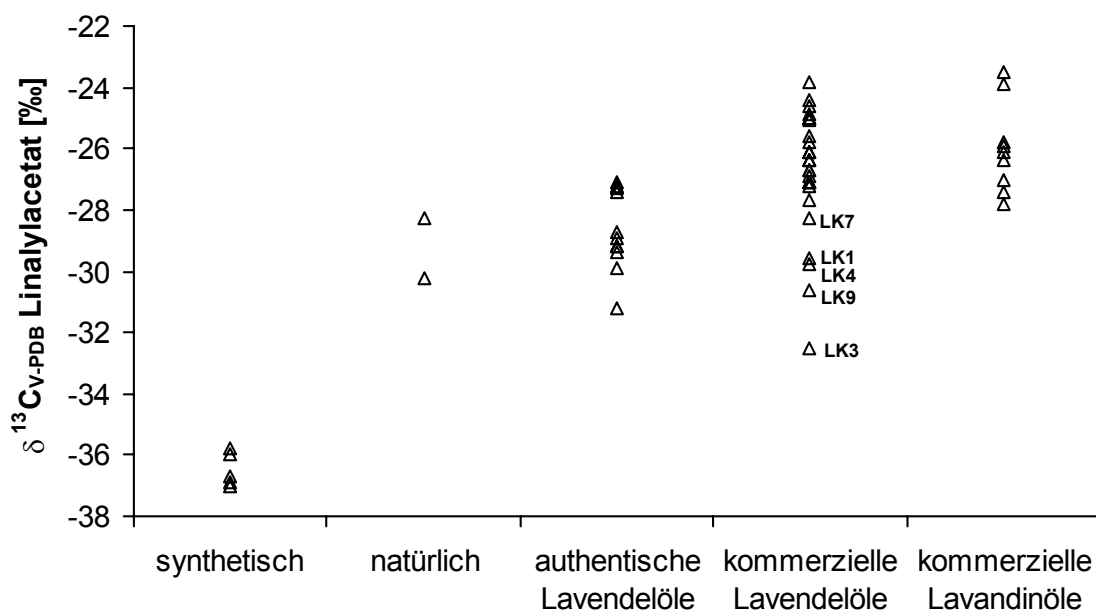
**Abb. 16.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalool unterschiedlicher Herkunft

Wie aus **Abb. 16.** ersichtlich ist, liegen die für die synthetischen Linalool-Standards ermittelten Isotopenverhältnisse im Bereich von  $-24,9$  –  $-28,4$  ‰. Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte der als natürlich bezeichneten Standards ( $-26,7$  und  $-28,5$  ‰) sowie die der authentischen Lavendelöle ( $-25,2$  –  $-30,3$  ‰) liegen im selben Bereich. Daher kann aufgrund der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalool keine Aussage im Hinblick auf die Authentizität von Lavendelölen gemacht werden.

In **Tab. 14.** sind die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche von Linalylacetat der synthetischen und natürlichen Standards sowie der authentischen und kommerziellen Lavendel- und der kommerziellen Lavandinöle zusammengefasst.

**Tab. 14.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] von Linalylacetat

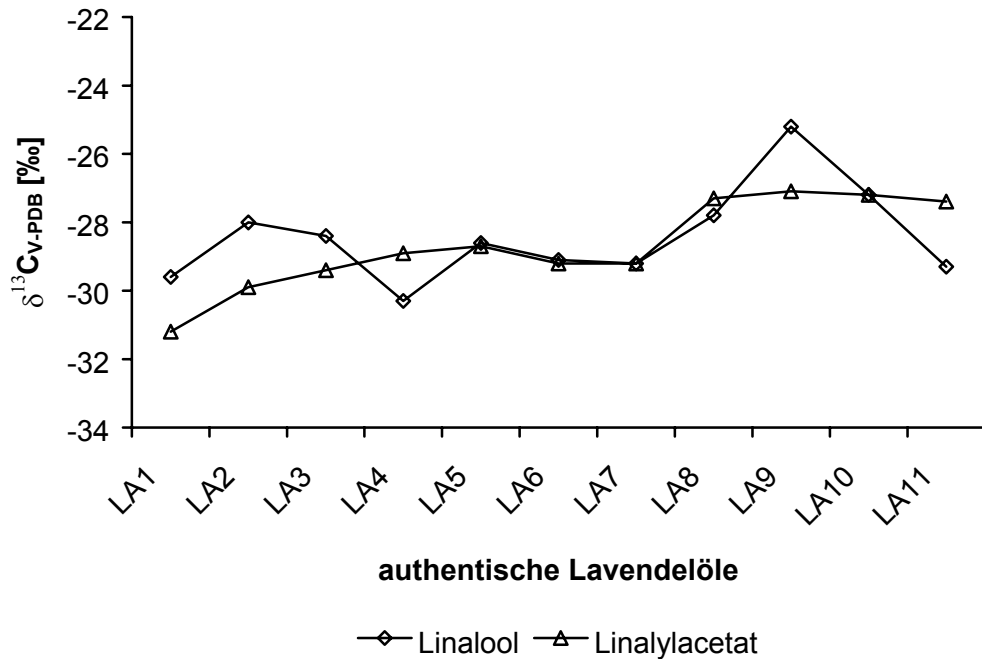
| Linalylacetat            | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche<br>[‰] | n  |
|--------------------------|---|----|
| synthetisch              | $-35,8$ – $-37,0$                                     | 6  |
| natürlich                | $-28,3$ – $-30,2$                                     | 2  |
| authentische Lavendelöle | $-27,1$ – $-31,2$                                     | 11 |
| kommerzielle Lavendelöle | $-24,4$ – $-32,5$                                     | 26 |
| kommerzielle Lavandinöle | $-23,9$ – $-27,8$                                     | 9  |



**Abb. 17.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalylacetat unterschiedlicher Herkunft

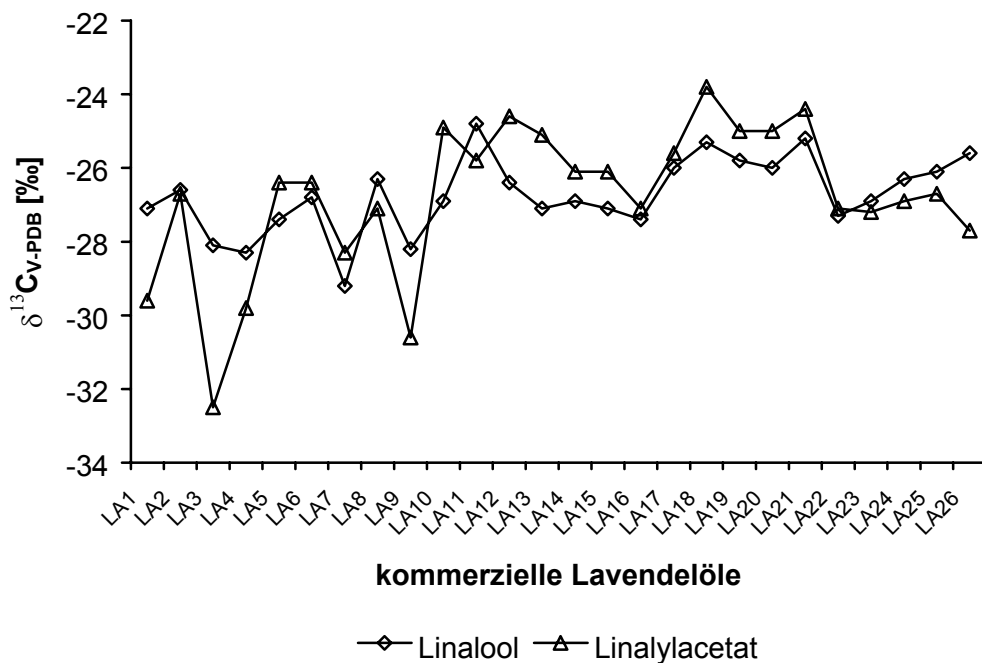
Wie aus **Abb. 17.** ersichtlich ist, zeigt sich beim Vergleich der Isotopenwerte der synthetischen Standards mit denen der entsprechenden Komponente der authentischen Öle, dass die Werte des synthetischen Linalylacetats (-35,8 bis -37,0 ‰) deutlich negativer liegen als die des Linalylacetats aus den authentischen Lavendelöle (-27,1 – -31,2 ‰). Die Werte der als natürlich bezeichneten Linalylacetat-Proben liegen im authentischen Bereich. Die für die kommerziellen Lavendelöle ermittelten Werte streuen über einen Bereich von -24,4 bis -32,5 ‰. Die Öle (Probenbezeichnung: LK1, LK3, LK4, LK7 und LK9), bei denen die Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat, wie in Kapitel 2.2.3 dargestellt wurde, nicht den natürlichen entsprechen, lassen sich aufgrund der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte nicht als verfälscht identifizieren. Die ermittelten Isotopenverhältnisse dieser Proben liegen zwar, wie aus **Abb. 17.** ersichtlich ist, relativ negativ, lassen sich aber nicht klar von denen der authentischen Proben differenzieren.

Die Bestimmung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalool kann aufgrund der identischen Werte von synthetischem und natürlichem Linalool nicht zur Echtheitsbewertung von Lavendelölen herangezogen werden. Etwas besser stellt sich die Situation für die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalylacetat dar. Die Isotopenverhältnisse von synthetischem Linalylacetat und authentischem Linalylacetat aus Lavendelölen unterscheiden sich deutlich. Allerdings zeigt sich anhand der untersuchten kommerziellen Lavendelöle, dass sich eine Verfälschung aufgrund der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte nicht eindeutig nachweisen lässt.



**Abb. 18.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus authentischen Lavendelölen

In **Abb. 18.** sind die Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat der authentischen Lavendelöle aufgetragen. Die Werte der Komponenten weisen nur sehr geringe Unterschiede auf. Aufgrund der Biosynthese (Linalool  $\rightarrow$  Linalylacetat) sind diese geringen Abweichungen der Isotopenverhältnisse dieser beiden Komponenten zu erwarten. Die größte ermittelte Abweichung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte der beiden Komponenten liegt für die authentischen Lavendelöle bei 1,9 ‰.



**Abb. 19.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus kommerziellen Lavendelölen

In **Abb. 19.** sind die Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat der kommerziellen Lavendelöle aufgetragen. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass die bestimmten Werte der beiden Komponenten in einigen Fällen deutlich voneinander abweichen. Bei der Probe LK3 beträgt die Differenz der für Linalool und Linalylacetat bestimmten Isotopenverhältnisse 4,4 ‰.

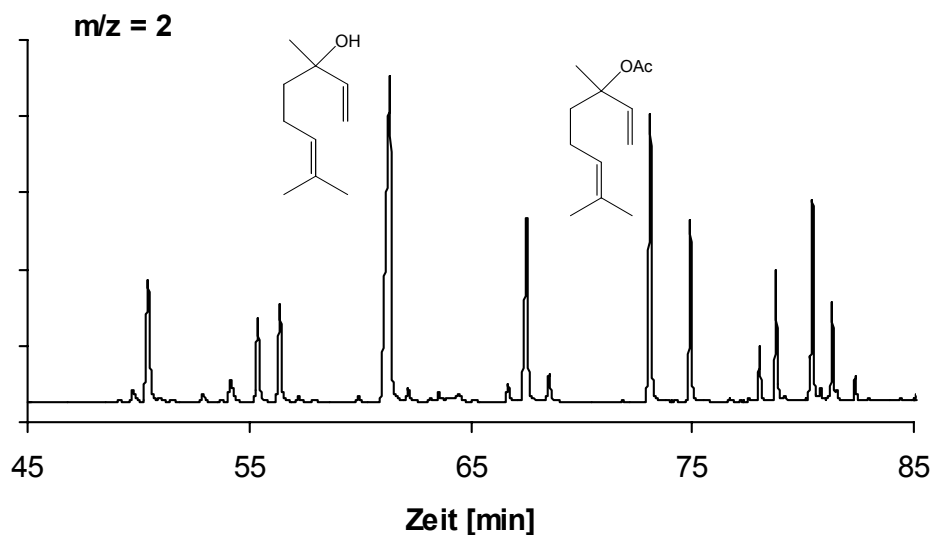
#### 2.2.4.2 Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat mittels GC-P-IRMS

Um Effekte auf die bestimmten  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte durch mögliche Austauschreaktionen bei der Aufarbeitung auszuschließen, wurden die ätherischen Öle auf zwei verschiedene Weisen gewonnen. Als gängige Herstellungsmethode wurde die Dampfdestillation angewendet. Kreis et al. konnten zeigen, dass diese Methode unter GMP Bedingungen keinen Einfluss auf die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse hat<sup>46</sup>. Weiterhin wurden die ätherischen Öle mittels Diethyletherextraktion bei Raumtemperatur gewonnen. Diese Methode wurde als schonende Vergleichsmethode herangezogen, da keine Temperaturbelastung vorliegt und keine Austauschreaktionen mit dem Extraktionsmittel möglich sind. In **Tab. 15.** ist am Beispiel einiger Öle gezeigt, dass die Aufarbeitung keinen Einfluss auf die bestimmten Isotopenverhältnisse hat. Die Werte stimmen unter Berücksichtigung der Standardabweichungen überein. Im folgenden wird daher nur noch auf die Werte der mittels Dampfdestillation gewonnenen Öle Bezug genommen.

In **Abb. 20.** ist das GC-P-IRMS-Chromatogramm eines mittels Dampfdestillation gewonnenen Lavendelöls dargestellt.

**Tab. 15.** Vergleich der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  Werte [‰] von Linalool und Linalylacetat der mittels Dampfdestillation und Diethyletherextraktion gewonnenen Lavendelöle

| Probe | Dampfdestillation                         |   | Diethyletherextraktion                    |   |
|-------|---|---|---|---|
|       | Linalool                                  | Linalylacetat                             | Linalool                                  | Linalylacetat                             |
|       | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
| LA1   | -274                                      | -269                                      | -270                                      | -268                                      |
| LA2   | -259                                      | -251                                      | -257                                      | -257                                      |
| LA3   | -241                                      | -246                                      | -251                                      | -253                                      |
| LA4   | -253                                      | -256                                      | -252                                      | -250                                      |



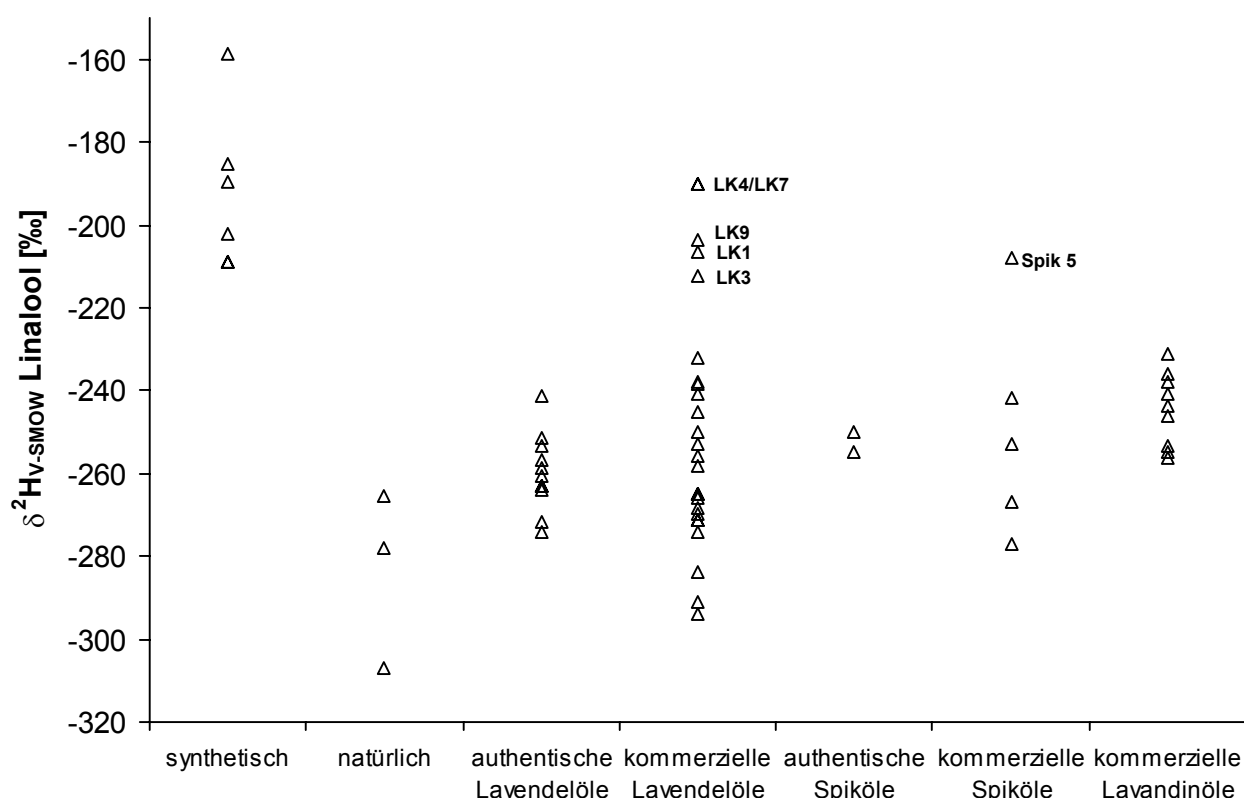
**Abb. 20.** GC-P-IRMS-Chromatogramm eines mittels Dampfdestillation gewonnenen Lavendelöls

In **Tab. 16.** sind die  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche von Linalool der synthetischen und natürlichen Standards\* sowie der authentischen und kommerziellen Lavendel-, Lavandin- und Spiköle aufgeführt. Die Einzelwerte aller Proben sind in **Abb. 21.** dargestellt.

**Tab. 16.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche [‰] von Linalool

| Linalool                 | $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche<br>[‰] | n  |
|--------------------------|---------------------------------------|----|
| synthetisch              | -159 – -209                           | 6  |
| natürlich                | -265 – -307                           | 3  |
| authentische Lavendelöle | -241 – -274                           | 11 |
| kommerzielle Lavendelöle | -190 – -294                           | 26 |
| authentische Spiköle     | -250 – -255                           | 2  |
| kommerzielle Spiköle     | -208 – -277                           | 5  |
| kommerzielle Lavandinöle | -231 – -270                           | 9  |

\* Die Angaben natürlich bzw. synthetisch beziehen sich auf die Auslobung oder die Auskunft der Hersteller.

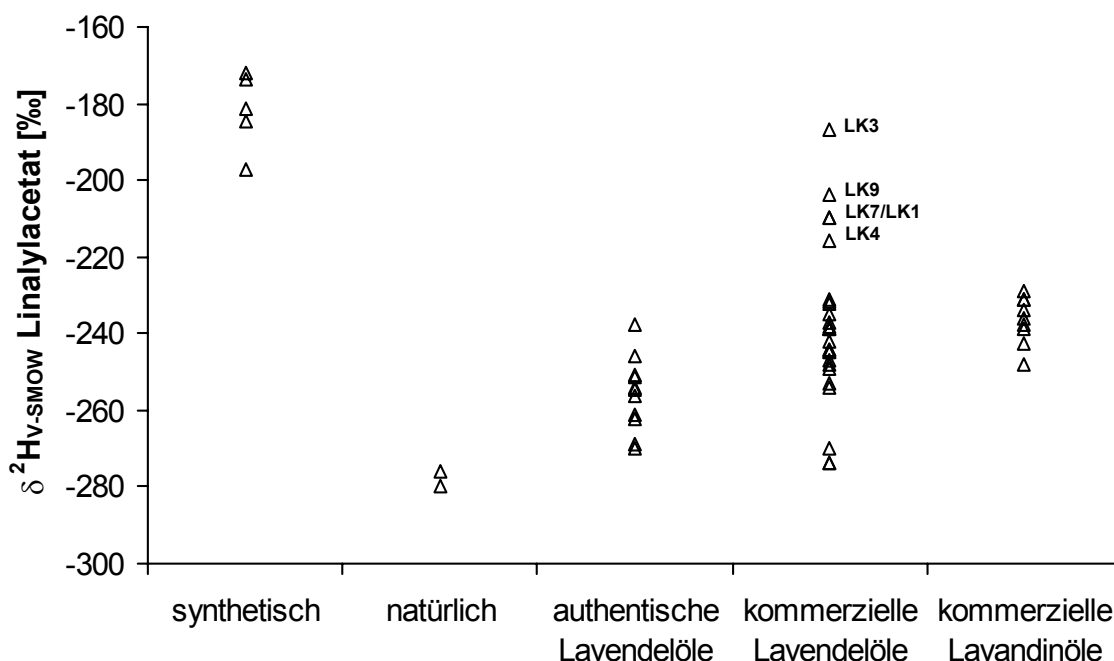


**Abb. 21.**  $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Werte von Linalool unterschiedlicher Herkunft

Die  $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Werte der synthetischen Linalool-Standards liegen im Bereich von -159 – -209 ‰ und sind damit deutlich positiver als die von natürlichem Linalool aus den authentischen Lavendel- und Spikölen ( $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Bereich = -241 – -274 ‰). Die Isotopenverhältnisse der als natürlich bezeichneten Linalool-Proben sind ebenfalls deutlich negativer ( $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Bereich = -265 – -307 ‰) als die der synthetischen Linalool-Standards. Der authentische Bereich für Linalool in Lavendel ist somit eindeutig von den Isotopenwerten der synthetischen Standards zu unterscheiden. Aufgrund der genannten Isotopenverhältnisse besteht die Möglichkeit, die  $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Werte von Linalool als Authentizitätsparameter für Lavendelöle heranzuziehen. Die Isotopenverhältnisse von Linalool der untersuchten kommerziellen Lavendelöle streuen über einen weiten Bereich mit Werten von -190 – -294 ‰. Wie aus **Abb. 21.** hervorgeht, liegen die Werte von fünf kommerziellen Ölen (Probenbezeichnung: LK1, LK3, LK4, LK7 und LK9) deutlich höher als die der authentischen Öle und somit im Bereich der synthetischen Standards. Daher ist davon auszugehen, dass diese kommerziellen Öle mit synthetischen Linalool verfälscht wurden. Weiterhin weicht das Isotopenverhältnis eines kommerziellen Spiköls (Probenbezeichnung: Spik 5) deutlich vom authentischen Bereich ab.

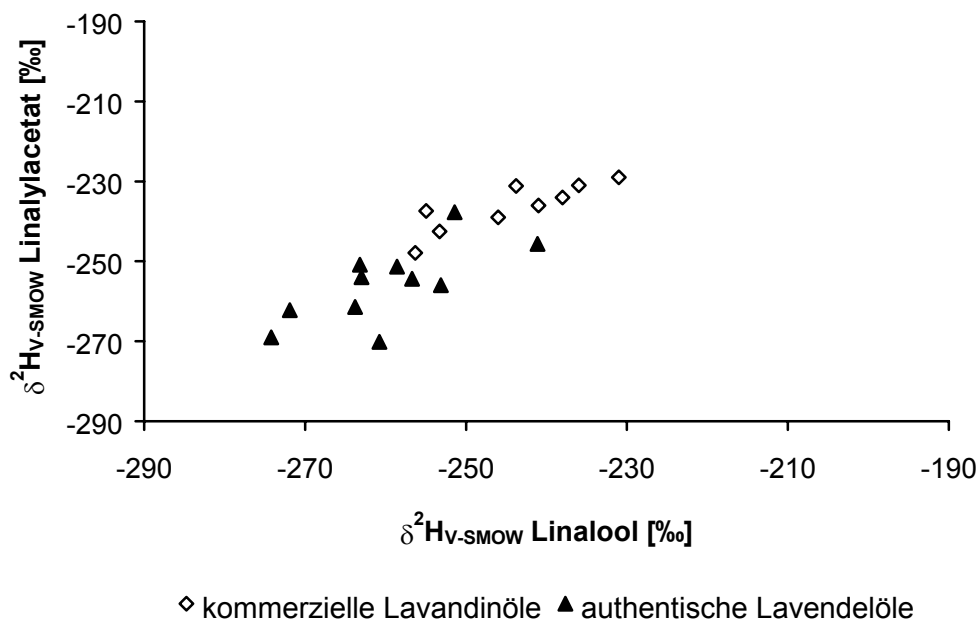
**Tab. 17.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche [‰] von Linalylacetat

| Linalylacetat            | $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche [‰] | n  |
|--------------------------|------------------------------------|----|
| synthetisch              | -172 – -197                        | 5  |
| natürlich                | -276 – -280                        | 2  |
| authentische Lavendelöle | -238 – -272                        | 11 |
| kommerzielle Lavendelöle | -187 – -274                        | 26 |
| kommerzielle Lavandinöle | -229 – -254                        | 9  |

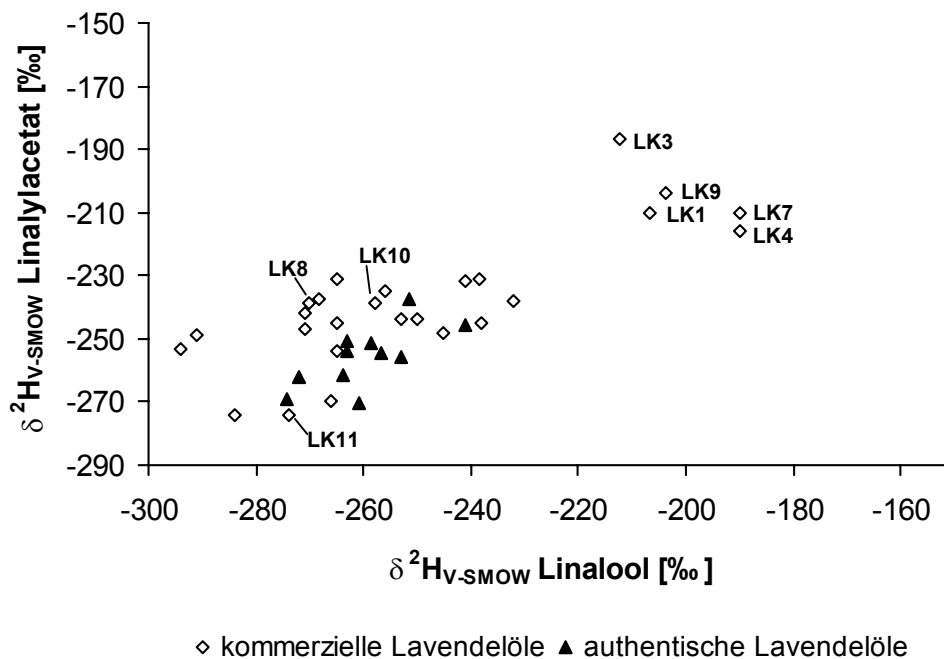
**Abb. 22.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte von Linalylacetat unterschiedlicher Herkunft

In **Tab. 17.** sind die  $\delta^2H_{V-SMOW}$  Bereiche von Linalylacetat der synthetischen und der natürlichen Standards sowie der authentischen und kommerziellen Lavendel- und der kommerziellen Lavandinöle zusammengefasst. Wie aus **Abb. 22.** ersichtlich ist, zeigt sich beim Vergleich der Isotopenwerte der synthetischen Proben mit denen der authentischen Öle wie im Falle des Linalools, dass die Werte des Linalylacetats aus authentischen Lavendelölen ( $\delta^2H_{V-SMOW} = -238 \text{ – } -272 \text{ ‰}$ ) deutlich negativer liegen, als die der synthetischen Standards ( $\delta^2H_{V-SMOW} = -172 \text{ – } -197 \text{ ‰}$ ). Die bestimmten Werte der als natürlich ausgelobten Linalylacetat-Standards liegen mit  $-276 \text{ ‰}$  und  $-280 \text{ ‰}$  ebenfalls negativer. Die  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte des Linalylacetats der kommerziellen Lavendelöle streuen über einen weiten Bereich ( $\delta^2H_{V-SMOW} = -187 \text{ – } -274 \text{ ‰}$ ). Wie bei den für Linalool ermittelten Isotopenverhältnissen weichen die Ergebnisse für fünf der kommerziellen Öle (Probenbezeichnung: LK1, LK3, LK4, LK7 und LK9) deutlich vom authentischen Bereich ab und sind somit als verfälscht zu beurteilen.

Die Isotopenverhältnisse des Linalylacetats der kommerziellen Lavandinöle liegen alle im authentischen Bereich. Auch die Korrelation der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool (**Abb. 23.**) zeigt, dass die Werte der kommerziellen Lavandinöle im selben Bereich liegen wie die der authentischen Lavendelöle.



**Abb. 23.** Korrelation der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus authentischen Lavendelölen und kommerziellen Lavandinölen

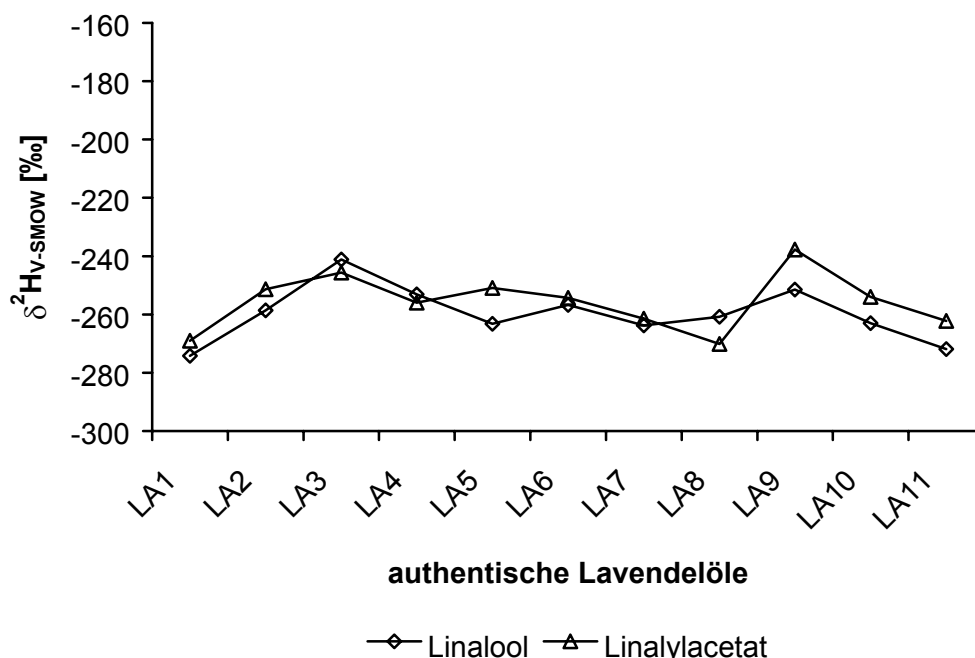


**Abb. 24.** Korrelation der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus kommerziellen und authentischen Lavendelölen



In **Abb. 24.** ist die Korrelation der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte für Linalool und Linalylacetat für authentische Lavendelöle ( $\blacktriangle$ ) und kommerzielle Lavendelöle ( $\diamond$ ) dargestellt. Die Werte von fünf der kommerziellen Lavendelöle (Probenbezeichnung: LK1, LK3, LK4, LK7 und LK9) liegen eindeutig in einem anderen Bereich und sind somit offensichtlich mit synthetischem Linalool und Linalylacetat verfälscht worden. Wie in Kapitel 2.2.3 dargestellt wurde, entsprechen die Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat in diesen Proben nicht den natürlichen Verhältnissen. Linalylacetat liegt in den genannten Proben annähernd racemisch vor und der Anteil von (R)-Linalool liegt zwischen 55 – 70 %. Weiterhin liegt bei drei untersuchten kommerziellen Lavendelölen der Anteil von (R)-Linalylacetat zwischen 80 – 90 %. Aufgrund dieser Enantiomerenverhältnisse ist auf einen Verschnitt mit synthetischem Linalylacetat zu schließen. Diese drei kommerziellen Lavendelöle (Probenbezeichnung LK8, LK10 und LK11) lassen sich aufgrund der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat nicht von den authentischen Proben unterscheiden.

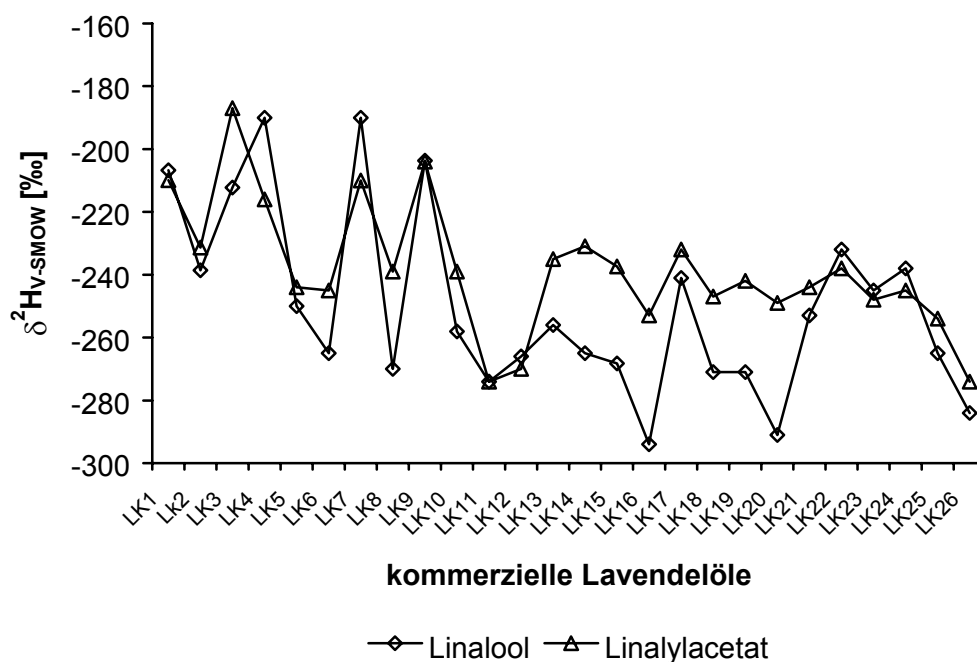
Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der Hauptkomponenten naturbelassener Lavendelöle lassen sich aufgrund der deutlichen Unterschiede zu den entsprechenden Werten von synthetischem Linalool bzw. Linalylacetat zur Authentizitätsbewertung von Lavendelölen heranziehen. Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass sich ein Verschnitt mit Linalool bzw. Linalylacetat nachweisen lässt. Allerdings können Verschnitte mit geringen Mengen der synthetischen Verbindungen aufgrund der Spannbreite der Isotopenverhältnisse der natürlichen Substanzen ggf. nicht erkannt werden.



**Abb. 25.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus authentischen Lavendelölen

In **Abb. 25.** sind die Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat der authentischen Lavendelöle aufgetragen. Die Werte der Komponenten weisen nur sehr geringe Unterschiede auf. Aufgrund der Biosynthese sind diese geringen Abweichungen der Isotopenverhältnisse zu erwarten. Tendenziell lässt sich erkennen, dass der für Linalool ermittelte Wert niedriger liegt als der für Linalylacetat. Eine Ausnahme stellen drei Öle (Probenbezeichnung LA3, LA4 und LA8) dar. Hier muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Abweichung der Werte von Linalool und Linalylacetat bei diesen Ölen im Bereich des Fehlers der Messung liegt. Die größte ermittelte Abweichung der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der beiden Komponenten in den authentischen Ölen liegt bei 14 ‰.

In **Abb. 26.** sind die Isotopenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat der kommerziellen Lavendelöle aufgetragen. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass die bestimmten Werte der beiden Komponenten in vielen Fällen deutlich voneinander abweichen (bis zu 40 ‰).



**Abb. 26.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalylacetat und Linalool aus kommerziellen Lavendelölen

## 2.3 Authentizität von Anis- und Fenchelölen

### 2.3.1 Einleitung

Fenchel (*Foeniculum vulgare* MILLER) und Anis (*Pimpinella anisum* L.) gehören zur Familie der Doldengewächse (*Apiaceae*). Beheimatet sind beide Pflanzen im Mittelmeerraum, werden aber heute auch in Mittel- und Westeuropa angebaut.

Der Anteil des ätherischen Öls in den Samen des Fenchels beträgt zwischen 2 % und 6 %. Man unterscheidet bitteres Fenchelöl, welches aus den Samen von *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* gewonnen wird und süßes Fenchelöl aus den Samen von *Foeniculum vulgare* var. *dulce*. Hauptkomponente des Fenchelöls ist *trans*-Anethol, daneben kommen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen, Limonen,  $\alpha$ -Phellandren und Fenchon vor. Eingesetzt werden Fenchelöle in der Pharmazie, in der Lebensmittelindustrie zur Herstellung von Likören und zum Würzen von Speisen<sup>37</sup>.

Der Anteil des ätherischen Öls in den Samen von Anis beträgt zwischen 2 und 6 %. Die Hauptkomponente, die bis zu 90 % des Anisöls ausmacht, ist *trans*-Anethol. Daneben kommen Linalool, Estragol und  $\alpha$ -Terpineol in geringen Mengen vor. Anisöl wird in der Pharmazie, Parfümerie (Moos- und Tabaknoten) und in der Lebensmittelindustrie verwendet<sup>37</sup>.

Gemäß Europäischem Arzneibuch ist zur Prüfung auf Reinheit von Anis- und Fenchelölen unter anderem die gaschromatographische Identifizierung und Quantifizierung charakteristischer Komponenten vorgeschrieben (vgl. **Tab. 18.**).

Im Deutschen Arzneibuch werden in der Monographie für bitteres Fenchelöl Angaben zu den Prozentgehalten weiterer charakteristischer Komponenten gemacht (vgl. **Tab. 18.**).

**Tab. 18.** Prozentgehalte der Komponenten von Anis- und Fenchelölen gemäß Europäischem (EuAB) und Deutschem Arzneibuch (DAB)<sup>3,4</sup>

| Substanz              | Anisöl<br>Gehalt<br>EuAB<br>[%] | Fenchelöl süß<br>Gehalt<br>EuAB<br>[%] | Fenchelöl bitter<br>Gehalt<br>EuAB<br>[%] | Fenchelöl bitter<br>Gehalt<br>DAB<br>[%] |
|-----------------------|---------------------------------|--|---|--|
| Linalool              | 0,1 – 1,5                       |  |   |  |
| Estragol              | 0,5 – 6,0                       | < 10                                   |   | < 6                                      |
| $\alpha$ -Terpineol   | 0,1 – 1,5                       |  |   |  |
| cis-Anethol           | < 0,5                           |  |   | < 0,5                                    |
| <i>trans</i> -Anethol | 84 – 93                         | > 80                                   | > 60                                      | 55,0 – 75,0                              |
| Anisaldehyd           | 0,1 – 3,5                       |  |   | < 2                                      |
| $\alpha$ -Pinen       |                                 |  |   | 1,0 – 10,0                               |
| Limonen               |                                 |  |   | 1,0 – 5,0                                |
| Fenchon               |                                 | < 7,5                                  | > 15                                      | 12,0 – 25,0                              |

Aufgrund der hohen Anforderungen des Arzneibuchs an die *trans*-Anetholgehalte beider Öle sind Verfälschungen mit synthetischem *trans*-Anethol nicht auszuschließen.

Methoden, mit denen man einen solchen Zusatz nachweisen kann, sind SNIF-NMR und Isotopenverhältnismassenspektrometrie.

Martin et al. wendeten die SNIF-NMR zur Bestimmung der Herkunft von *trans*-Anethol an. Aufgrund der charakteristischen Isotopenverteilung konnten sie zwischen natürlichem und synthetischem *trans*-Anethol unterscheiden<sup>21</sup>.

Culp et al. bestimmten die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von synthetischem und natürlichem *trans*-Anethol offline mittels IRMS. Die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Verhältnisse von synthetischem *trans*-Anethol lagen bei  $-58 \pm 28 \text{ ‰}$  und die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisse bei  $-31,3 \pm 0,8 \text{ ‰}$ ; die  $^2\text{H}/^1\text{H}$  Verhältnisse für natürliches *trans*-Anethol betrugen  $-85 \pm 12 \text{ ‰}$  und die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Verhältnisse  $-28,5 \pm 1,8 \text{ ‰}$ <sup>43</sup>. Aufgrund der weiten Spannbreiten der bestimmten Isotopenverhältnisse und mehr oder minder große überlappende Bereiche lässt sich keine eindeutige Unterscheidung zwischen synthetischem und natürlichem *trans*-Anethol treffen. Es lässt sich jedoch sagen, dass die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von natürlichem *trans*-Anethol tendenziell negativer und die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse weniger negativ sind als die von synthetischen Proben.

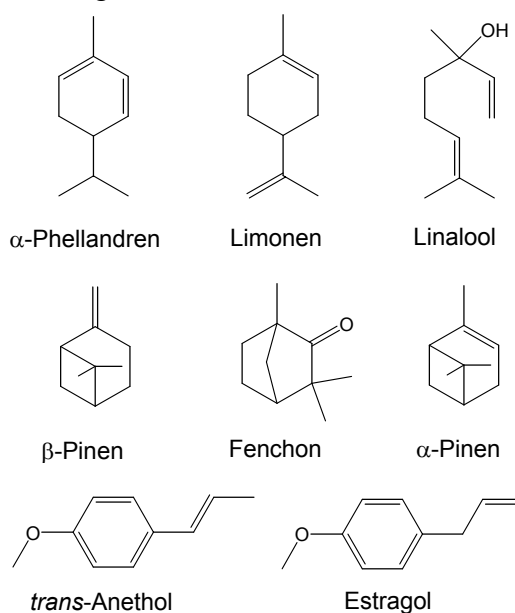
Daher erscheint es möglich, durch die Bestimmung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol mittels GC-IRMS und die integrale Betrachtung beider Parameter, eine Methode zur Authentizitätskontrolle von *trans*-Anethol zu entwickeln.

Dazu sollen die authentischen Bereiche der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte mittels GC-P-IRMS sowie der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte mittels GC-C-IRMS bestimmt werden. Weiterhin werden synthetische und natürliche *trans*-Anethol-Proben sowie kommerziell erhältliche Anis- und Fenchelöle untersucht, um die Möglichkeit zu überprüfen, inwieweit die Methoden zur Authentizitätsbewertung genutzt werden können.

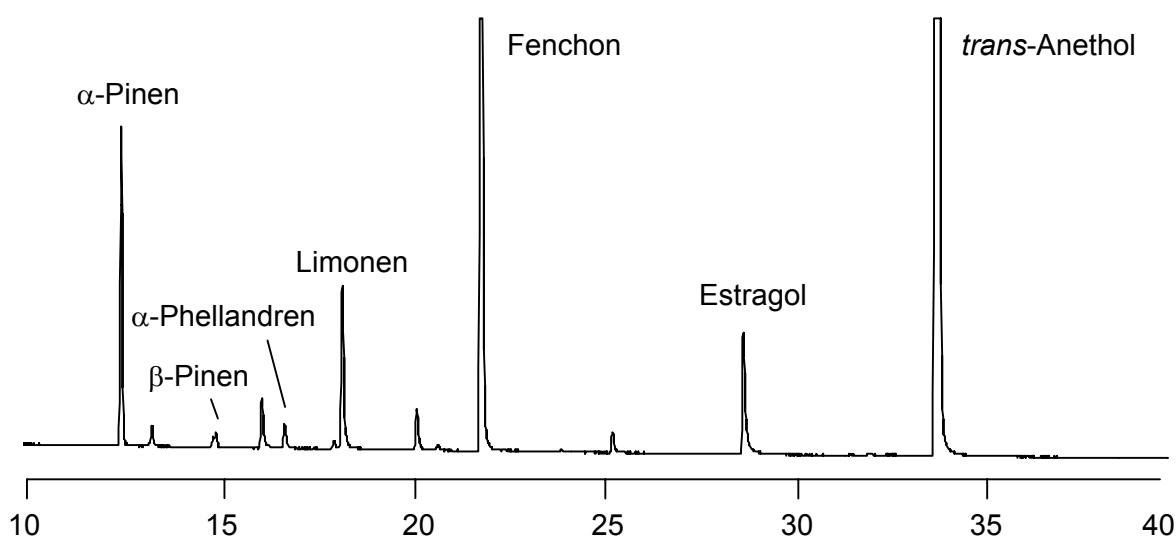
### 2.3.2 Identifizierung und Quantifizierung der Inhaltsstoffe

Bei den untersuchten authentischen Proben handelt es sich um ätherische Öle aus Fenchel- bzw. Anissamen, die mittels Wasserdampfdestillation gewonnen wurden. Weiterhin wurden kommerziell erhältliche Anis- und Fenchelöle verschiedener Hersteller analysiert.

Die Identifizierung der Komponenten der Fenchel- und Anisöle erfolgte mittels GC-MS über den Vergleich der Retentionszeiten und Massenspektren mit den Referenzdaten von Standardsubstanzen. Die Öle wurden auf die in **Abb. 27** dargestellten Komponenten untersucht. In **Abb. 28** ist das GC-MS-Chromatogramm eines authentischen Fenchelöls dargestellt.



**Abb. 27.** Komponenten in Anis- und/oder Fenchelölen



**Abb. 28.** GC-MS-Chromatogramm eines mittels Wasserdampfdestillation gewonnenen Fenchelöls

**Tab. 19.** Flächenprozentage der identifizierten Komponenten der Fenchelöle (EuAB = Europäisches Arzneibuch<sup>3</sup>, DAB = Deutsches Arzneibuch<sup>4</sup>)

|                                   | $\alpha$ -Pinen<br>[%] | $\beta$ -Pinen<br>[%] | $\alpha$ -Phellandren<br>[%] | Limonen<br>[%] | Fenchon<br>[%] | Linalool<br>[%] | Estragol<br>[%] | <i>trans</i> -Anethol<br>[%] |
|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| EuAB<br>Fenchelöl süß             |                        |                       |                              |                | < 7,5          |                 | < 10            | > 80                         |
| EuAB<br>Fenchelöl bitter          |                        |                       |                              |                | > 15           |                 |                 | > 60                         |
| DAB<br>Fenchelöl bitter           | 1,0 –<br>10,0          |                       |                              | 1,0 – 5,0      | 12,0 –<br>25,0 |                 | < 6             | 55,0 –<br>75,0               |
| authentische<br>Fenchelöle süß    | 0,4 –<br>0,8           | 0,1 –<br>0,2          | 0,1                          | 2,1 – 6,8      | 0,5 –<br>6,2   | n.n.            | 1,3 – -2,9      | 84,1 –<br>92,9               |
| authentische<br>Fenchelöle bitter | 3,1 –<br>5,8           | 0,2 –<br>0,5          | 0,3 – 0,4                    | 2,1 – 2,7      | 16,8 –<br>27,1 | n.n.            | 1,1 – 2,3       | 60,3 –<br>73,3               |
| kommerzielle<br>Fenchelöle süß    | < 6,2                  | < 0,5                 | < 2,2                        | < 6,8          | 0,5 –<br>10,2  | < 0,4           | < 2,9           | 79,5 –<br>97,6               |

In **Tab. 19.** sind die prozentualen Gehalte der identifizierten Komponenten der Fenchelöle zusammengefasst. Die für die authentischen Öle ermittelten Gehalte entsprechen den im Europäischen und Deutschen Arzneibuch angegebenen Werten für bitteres Fenchelöl bzw. den im Europäischen Arzneibuch angegebenen Gehalten für süßes Fenchelöl. Eines der untersuchten kommerziellen Öle (Probenbezeichnung FK3) überschreitet mit 10,2 % den für süßes Fenchelöl vorgeschriebenen Maximalgehalt an Fenchon.

**Tab. 20.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der Anisöle (EuAB = Europäisches Arzneibuch<sup>3</sup>)

|                                   | $\alpha$ -Pinen<br>[%] | $\beta$ -Pinen<br>[%] | $\alpha$ -Phellandren<br>[%] | Limonen<br>[%] | Linalool<br>[%] | Estragol<br>[%] | <i>trans</i> -Anethol<br>[%] |
|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| EuAB<br>authentische<br>Anisölöle |                        |                       |                              |                | 0,1 – 1,5       | 0,5 – 6,0       | 84 – 93                      |
| kommerzielle<br>Anisöle           | 0,2 –<br>0,4           | < 0,2                 | < 0,2                        | 0,3 – 1,5      | 0,6 – 1,1       | < 3,3           | 95,2 – 97,7                  |

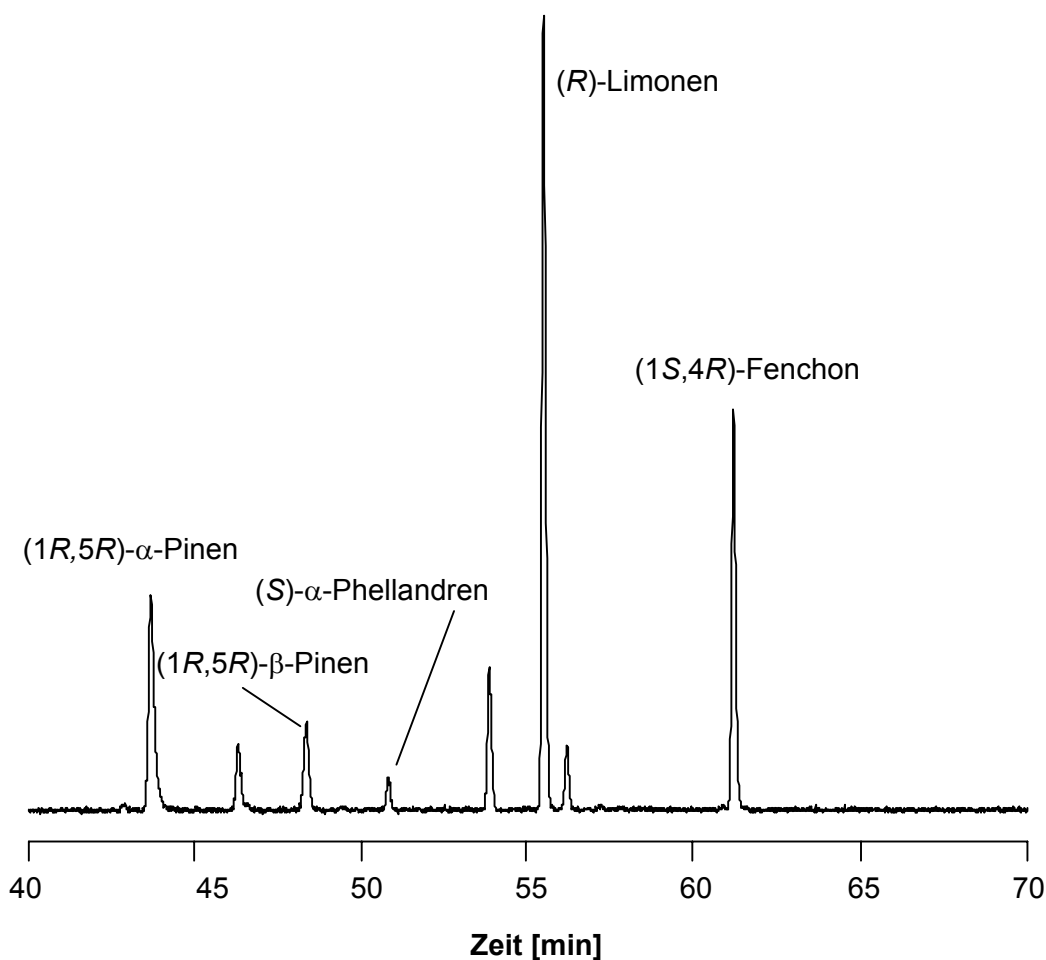
In **Tab. 20.** sind die prozentualen Gehalte der identifizierten Komponenten der Anisöle aufgeführt. Die authentischen Anisöle weisen hohe Gehalte an *trans*-Anethol auf, die den Bereich überschreiten, der im Europäischen Arzneibuch angegeben ist. Dagegen entsprechen die kommerziellen Anisöle den Anforderungen gemäß Europäischem Arzneibuch.

### 2.3.3 Enantioselektive Analyse der chiralen Komponenten des Fenchelöls mittels enantio-MDGC-MS

Die enantioselektive Analyse zur Echtheitsbewertung von Fenchelölen macht nur in Bezug auf Fenchon in bitteren Fenchelölen Sinn, da für diese Komponente im Europäischen Arzneibuch ein Mindestgehalt gefordert ist. Fenchon kommt in Fenchelölen hochrein zugunsten des (1*S*)-Enantiomeren vor<sup>47</sup>.

**Abb. 29.** zeigt die enantioselektive Analyse der chiralen Komponenten eines Fenchelöls unter Verwendung von Heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin in SE 52 als stationäre Phase.

In **Tab. 1.** sind die Enantiomerenverhältnisse der chiralen Komponenten der Fenchelöle dargestellt.



**Abb. 29.** Hauptsäulenchromatogramm eines mittels Wasserdampfdestillation gewonnenen Fenchelöls

**Tab. 21.** Enantiomerenverhältnisse [%] der chiralen Komponenten in Fenchelölen

| Probe                   | $\alpha$ -Pinen |        | $\beta$ -Pinen |      | $\alpha$ -Phellandren |      | Limonen |        | Fenchon |      |
|-------------------------|-----------------|--------|----------------|------|-----------------------|------|---------|--------|---------|------|
|                         | (S)             | (R)    | (R)            | (S)  | (R)                   | (S)  | (S)     | (R)    | (R)     | (S)  |
|                         | [%]             | [%]    | [%]            | [%]  | [%]                   | [%]  | [%]     | [%]    | [%]     | [%]  |
| authentische Fenchelöle | < 1,2           | > 98,8 | > 99           | < 1  | < 1                   | > 99 | < 41,0  | > 59,0 | < 1     | > 99 |
| FK1                     | 1,2             | 98,8   | > 99           | < 1  | < 1                   | > 99 | 40,6    | 59,4   | < 1     | > 99 |
| FK2                     | 17,3            | 82,7   | 54,8           | 45,1 | < 1                   | > 99 | 53,3    | 46,7   | < 1     | > 99 |
| FK3                     | < 1             | > 99   | > 99           | < 1  | < 1                   | > 99 | 15,1    | 84,9   | < 1     | > 99 |
| FK4                     | n.n.            | n.n.   | n.n.           | n.n. | n.n.                  | n.n. | n.n.    | n.n.   | < 1     | > 99 |

Die ermittelten Enantiomerenverhältnisse der authentischen Lavendelöle zeigen, dass (*R*)- $\alpha$ -Pinen und (*R*)- $\beta$ -Pinen hoch enantiomerenrein vorkommen. Bei den Komponenten  $\alpha$ -Phellandren und Fenchon liegen die ermittelten Gehalte für das (*S*)-Enantiomer bei größer 99 %. Das Enantiomerenverhältnis von Limonen unterliegt starken Schwankungen. In allen untersuchten kommerziellen Fenchelölen liegen  $\alpha$ -Phellandren und Fenchon ebenfalls enantiomerenrein vor. Bei einem der kommerziellen Fenchelöle liegt  $\beta$ -Pinen annähernd racemisch vor und  $\alpha$ -Pinen in einem Enantiomerenverhältnis von 17,3 : 82,7 (*S* : *R*). Die Verbindungen sind allerdings nur in geringen Gehalten ( $\alpha$ -Pinengehalt = 4,9 %,  $\beta$ -Pinengehalt = 0,5 %) enthalten und eine Verfälschung mit diesen Komponenten erscheint nicht sinnvoll.



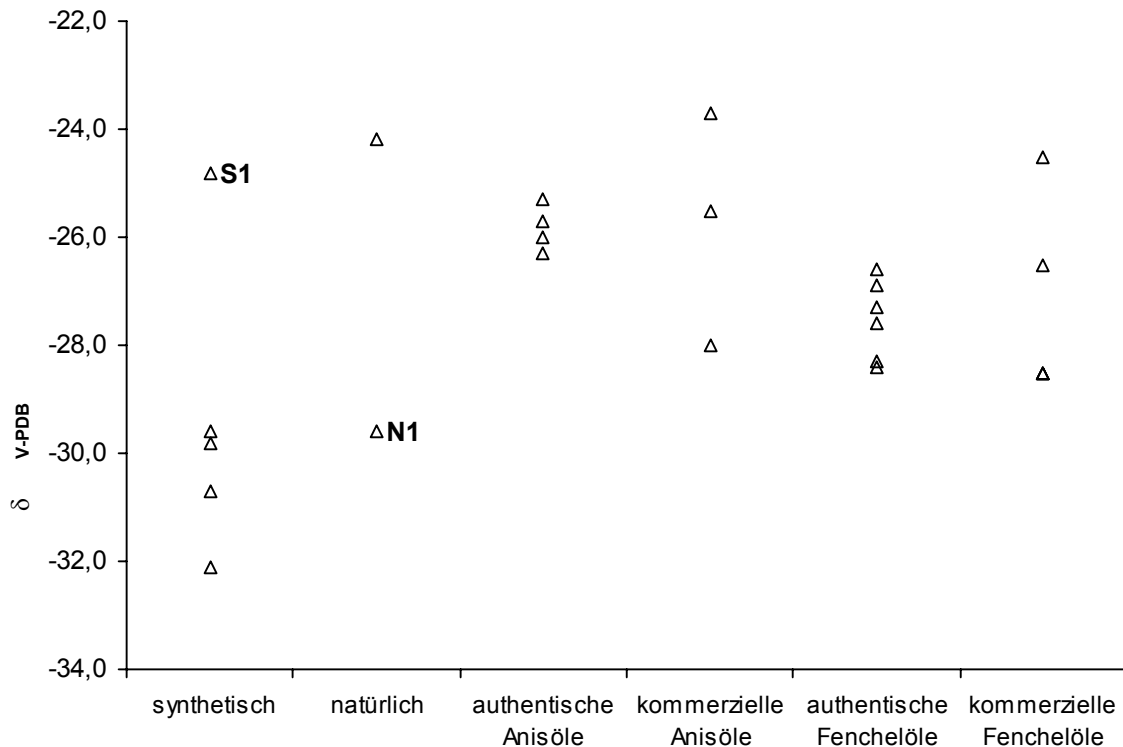
## 2.3.4 Isotopenmassenspektrometrische Analyse

### 2.3.4.1 Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol mittels GC-C-IRMS

In **Tab. 22.** sind die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche von *trans*-Anethol der synthetischen und natürlichen Standards\* sowie der authentischen und kommerziellen Anis- und Fenchelöle aufgeführt.

**Tab. 22.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] von *trans*-Anethol

| <i>trans</i> -Anethol   | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche<br>[‰] | n |
|-------------------------|---|---|
| synthetisch             | -24,8 – -32,1   | 5 |
| natürlich               | -24,2 – -29,6   | 2 |
| authentische Fenchelöle | -26,6 – -28,4   | 5 |
| kommerzielle Fenchelöle | -24,5 – -28,5   | 4 |
| authentische Anisöle    | -25,3 – -26,3   | 4 |
| kommerzielle Anisöle    | -23,7 – -28,0   | 3 |



**Abb. 30**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von *trans*-Anethol unterschiedlicher Herkunft

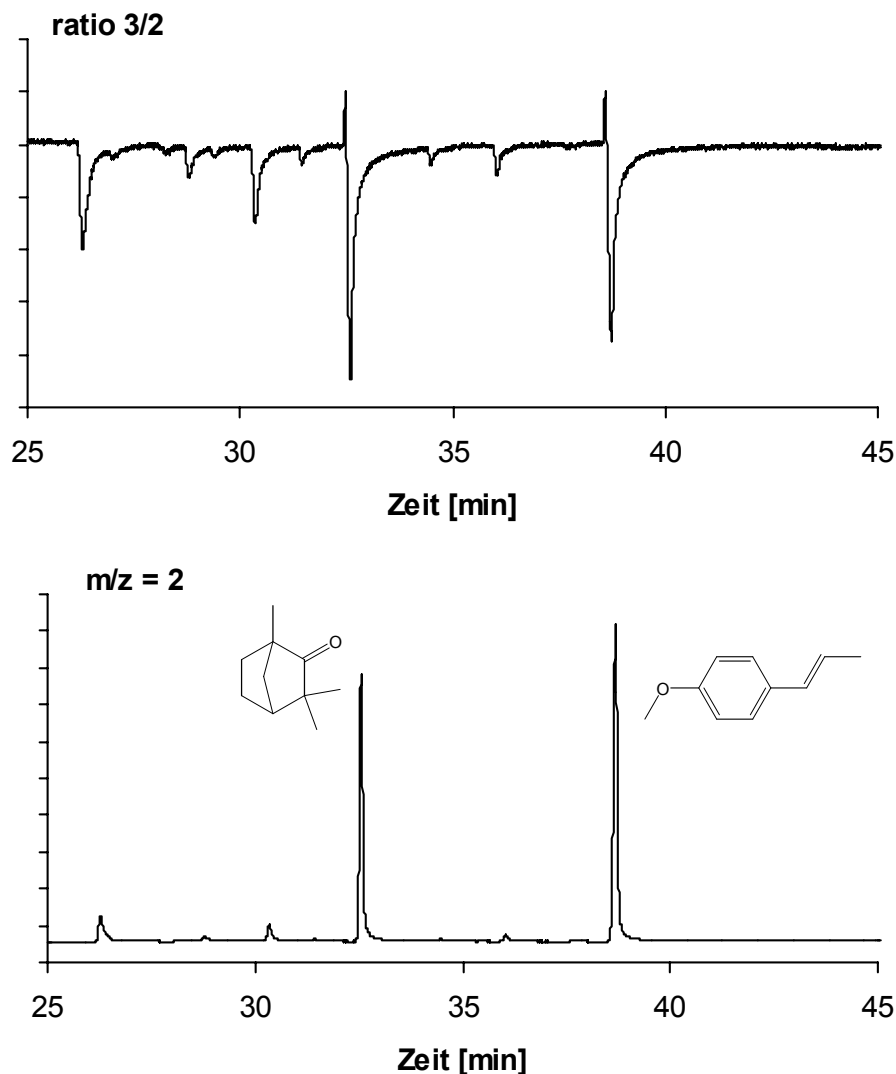
\* Die Angaben natürlich bzw. synthetisch beziehen sich auf die Auslobung oder die Auskunft der Hersteller.

Der authentische Bereich von *trans*-Anethol in Fenchel- und Anisölen liegt wie aus **Abb. 30.** ersichtlich zwischen -25,3 und -28,4 ‰, wobei die Werte für die Fenchelöle tendenziell negativer liegen als die für die Anisöle ermittelten Werte (-25,3 – -26,3 ‰). Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte für die meisten der synthetischen Proben liegen im Bereich von -29,6 ‰ bis -32,1 ‰ und unterscheiden sich somit deutlich vom authentischen Bereich. Das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis einer synthetischen Probe (Probenbezeichnung S1) liegt mit einem Wert von -24,8 ‰ im Bereich der authentischen Proben. Synthetisches *trans*-Anethol kann durch Isomerisierung aus Estragol hergestellt werden oder ausgehend von Anisol synthetisiert werden<sup>48</sup>. Der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert von *trans*-Anethol, das durch Isomerisierung aus Estragol hergestellt wird, entspricht dem des Estragols. Da Estragol häufig aus den selben natürlichen Quellen stammt wie *trans*-Anethol, ist davon auszugehen, dass der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert von *trans*-Anethol, das aus Estragol hergestellt wurde, im gleichen Bereich liegt wie der von natürlichem *trans*-Anethol<sup>13</sup>. Somit lässt sich der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert des synthetischen *trans*-Anethols (Probenbezeichnung S1), der im Bereich der authentischen Proben liegt, erklären. Dagegen können die negativeren  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte der anderen synthetischen Proben auf die Synthese ausgehend von Anisol zurückgeführt werden.

Von den als natürlich bezeichneten *trans*-Anethol-Proben liegt der Wert einer Probe im authentischen Bereich, der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert der anderen Probe (Probenbezeichnung N1) liegt mit 29,6 ‰ eher im Bereich der synthetischen Proben. Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von *trans*-Anethol aus den kommerziellen Anis- und Fenchelölen streuen über einen weiteren Bereich (Fenchelöle -24,5 – -28,5 ‰, Anisöle -23,7 – -28,0 ‰) als die der authentischen Proben, liegen aber im selben Bereich.

#### 2.3.4.2 Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol mittels GC-P-IRMS

Ein möglicher Einfluss der Wasserdampfdestillation auf die bestimmten Isotopenverhältnisse wurde überprüft, indem ein *trans*-Anethol-Standard unter den selben Bedingungen wie die Anis- und Fenchelsamen wasserdampfdestilliert wurde. Die bestimmten Isotopenverhältnisse stimmen unter Berücksichtigung der Standardabweichung überein ( $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -34 \text{ ‰} \pm 3 \text{ ‰}$  bzw.  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -30 \text{ ‰} \pm 2 \text{ ‰}$ ). Somit kann ein Einfluss der Probenaufarbeitung auf die bestimmten Isotopenverhältnisse ausgeschlossen werden. **Abb. 31.** zeigt ein GC-P-IRMS-Chromatogramm eines Fenchelöls. Im oberen Teil der Abbildung ist das Verhältnis der Masse 3 zur Masse 2 aufgetragen und im unteren Teil die Massenspur 2.

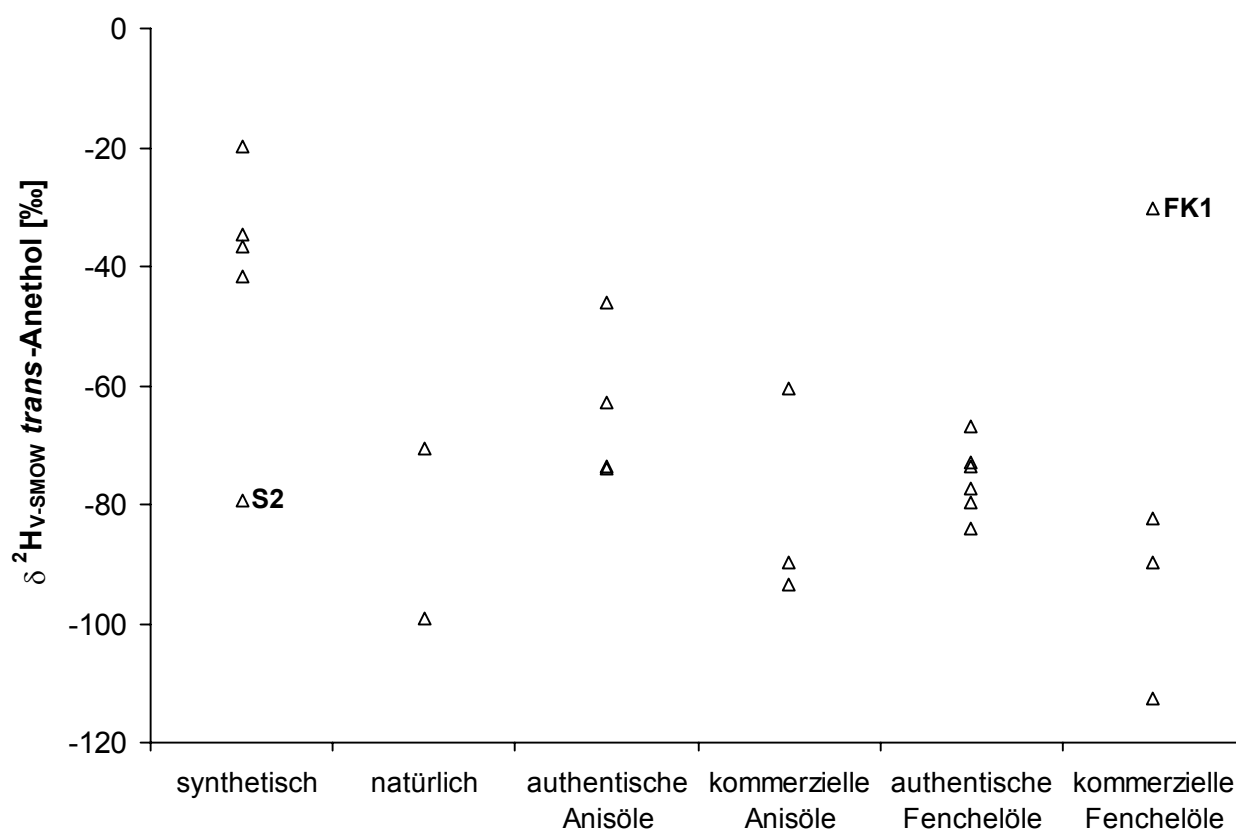


**Abb. 31.** GC-P-IRMS-Chromatogramm eines Fenchelöls

In **Tab. 23.** sind die  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche von *trans*-Anethol der synthetischen und natürlichen Standards sowie der authentischen und kommerziellen Anis- und Fenchelöle aufgeführt. Die Einzelwerte aller Proben sind in **Abb. 32.** dargestellt.

**Tab. 23.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche [‰] von *trans*-Anethol

| <i>trans</i> -Anethol   | $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Bereiche<br>[‰] | n |
|-------------------------|---------------------------------------|---|
| synthetisch             | -20 – -79                             | 5 |
| natürlich               | -71 – -99                             | 2 |
| authentische Fenchelöle | -67 – -84                             | 5 |
| kommerzielle Fenchelöle | -30 – -113                            | 4 |
| authentische Anisöle    | -46 – -74                             | 4 |
| kommerzielle Anisöle    | -61 – -93                             | 3 |

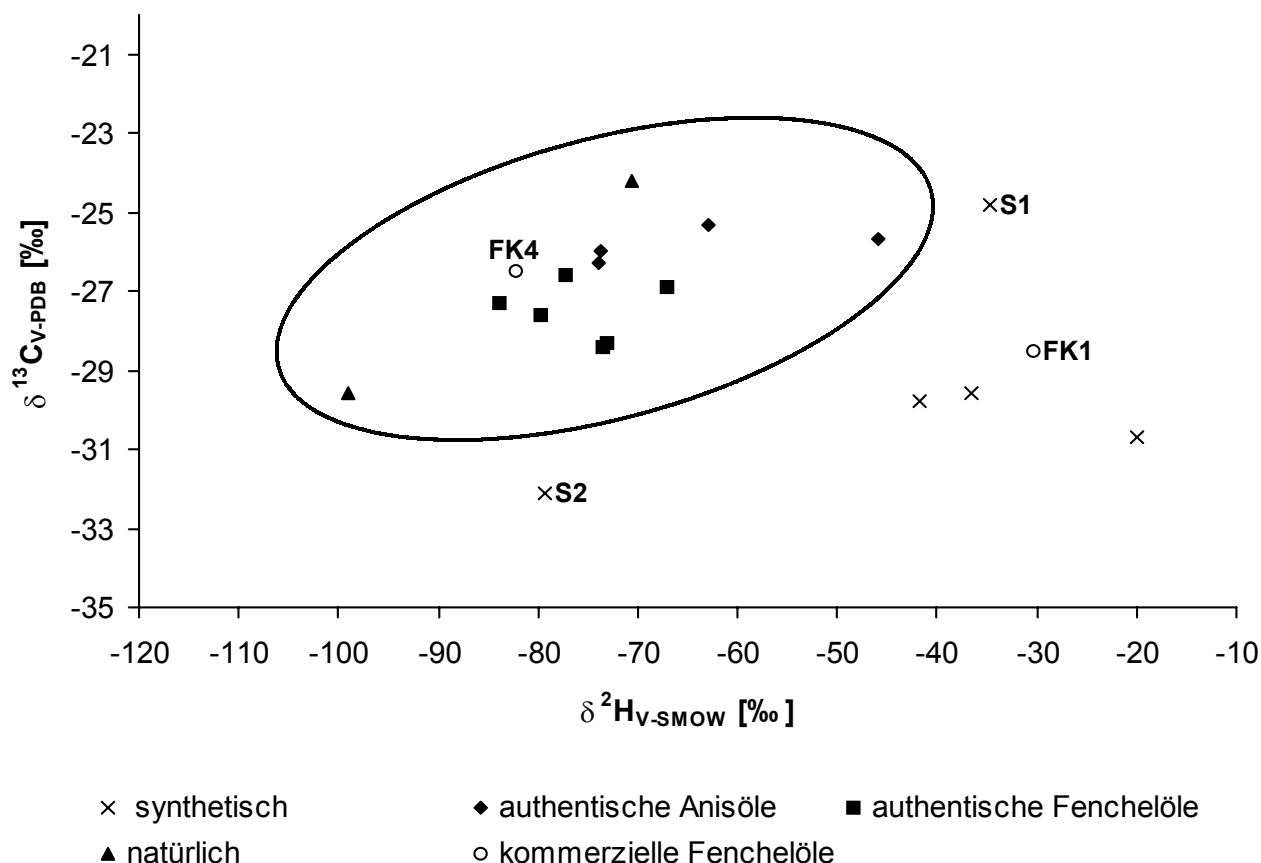


**Abb. 32**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol unterschiedlicher Herkunft

Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol aus authentischen Anis- und Fenchelölen liegen im Bereich von -46 – -84 ‰. Die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse der als natürlich bezeichneten *trans*-Anethol Proben liegen mit -71 und -99 ‰ im selben Bereich. Die Werte der meisten synthetischen Proben liegen im Bereich von -20 – -42 ‰ und somit weniger negativ als die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol der authentischen Anis- und Fenchelöle. Das Isotopenverhältnis einer der synthetischen Proben (Probenbezeichnung S2) liegt mit -79 ‰ im Bereich der authentischen Proben. Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol in den kommerziellen Ölen streuen über einen weiten Bereich (Fenchelöle -30 – -113 ‰, Anisöle -61 – -93 ‰). Das Isotopenverhältnis eines der kommerziellen Fenchelöle (Probenbezeichnung FK1) weicht mit -30 ‰ von den für die authentischen Fenchelöle (-67 – -84 ‰) ermittelten Werte ab und fällt in den Bereich der synthetischen Proben.

### 2.3.4.3 Korrelation der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol

In **Abb. 33.** sind die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von *trans*-Anethol gegen die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte aufgetragen.



**Abb. 33.** Auftragung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte gegen die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol

Die Ellipse in **Abb. 33.** skizziert den authentischen Bereich, der aufgrund der ermittelten  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte und  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von *trans*-Anethol aus authentischen Fenchel- und Anisölen festgelegt wurde. Tendenziell lässt sich erkennen, dass die Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol in Fenchelölen bei beiden Elementen negativer liegen als die des *trans*-Anethols aus Anisölen. Die synthetischen *trans*-Anethol Proben können deutlich von den authentischen Proben unterschieden werden. Probe S1 ist aufgrund ihres  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wertes als synthetisch zu beurteilen, während der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert von Probe S2 nicht im authentischen Bereich liegt. In **Abb. 33.** sind außerdem beispielhaft die Werte von zwei kommerziellen Fenchelölen aufgetragen. Die Probe FK4 liegt eindeutig im authentischen Bereich, wogegen die Probe FK1 aufgrund ihres  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wertes als synthetisch beurteilt werden muss.

Die bestimmten  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol zeigen deutlich die neuen Möglichkeiten, die die Multielement-Analyse mittels GC-IRMS in der Authentizitätsbewertung von Aroma- und Duftstoffen bietet.

## 2.4 Authentizität von Kümmelölen

### 2.4.1 Einleitung

Kümmel (*Carum carvi* L.) gehört zur Familie der Doldengewächse (*Apiaceae*) und ist in Europa, Nordafrika und Nordamerika weit verbreitet. Die Früchte enthalten zwischen 3 und 7 % ätherisches Öl, das zu circa 95 % aus den Hauptkomponenten Limonen und Carvon besteht. Die wesentliche Geruchskomponente des Kümmelöles ist das (S)-Carvon. Einsatzgebiete von Kümmelölen sind Kosmetik, Parfümerie (Moos- und Tabaknoten), Pharmazie (Mundpflegemittel, Bäder) und die Lebensmittelindustrie (Liköre)<sup>37</sup>.

Gemäß Europäischem Arzneibuch ist zur Prüfung auf Reinheit unter anderem die enantioselektive Analyse der Hauptkomponenten Limonen und Carvon vorgeschrieben (vgl. **Tab. 24**).

**Tab. 24.** Prozentgehalte von Limonen und Carvon gemäß Deutschem Arzneibuch (DAB)<sup>4</sup>

| Substanz    | Gehalt<br>[‰] |
|-------------|---------------|
| (R)-Limonen | 35,0 – 40,0   |
| (S)-Carvon  | 50,0 – 65,0   |
| (R)-Carvon  | < 1,0         |

Neben der enantioselektiven Analyse der Hauptkomponenten Carvon und Limonen kann auch die Bestimmung von Isotopenverhältnissen dieser Hauptkomponenten zur Authentizitätsbewertung herangezogen werden. Faulhaber bestimmte die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon in Kümmelölen<sup>49</sup>. Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche für Limonen lagen zwischen -27,6 und -29,2 ‰ und die für Carvon bestimmten Isotopenverhältnisse lagen im Bereich von -27,4 bis -29,2 ‰. Weiterhin zeigte sich, dass die Differenzen zwischen dem  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert von Limonen und dem von Carvon eines Öles nur sehr gering (< 1 %) waren. Aufgrund der biochemischen Zusammenhänge sind nur geringe Unterschiede in den Isotopenverhältnissen von Limonen und Carvon zu erwarten. Ausgehend von (+)-Limonen wird (+)-Carvon über die Zwischenstufe (+)-*trans*-Carveol gebildet<sup>50, 51</sup>.

Durch die Bestimmung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon mittels GC-IRMS soll eine Methode zur Authentizitätskontrolle von Kümmelölen entwickelt werden, die die enantioselektive Analytik ergänzt.

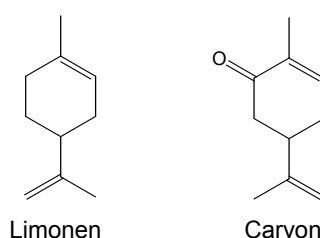
Dazu werden die authentischen Bereiche der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte sowie der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Limonen und Carvon in Kümmelölen bestimmt. Weiterhin werden kommerziell erhältliche Limonen-Standards sowie kommerziell erhältliche Kümmelöle untersucht, um die Möglichkeit zur Authentizitätsbewertung auszuloten. Die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von kommerziell erhältlichen Carvon-Standards

erscheint nicht sinnvoll, da Chemikalienhersteller/-Vertreiber Carvon nur enantiomerenrein anbieten. (*R*)-(-)-Carvon wird entweder aus Spearmintöl isoliert oder ausgehend von (*R*)-Limonen hergestellt<sup>48</sup>. Da (*S*)-Carvon aus Kümmelölen isoliert wird, kann eine mögliche Verfälschung mit kommerziell erhältlichem (*S*)-Carvon aufgrund der gleichen Herkunft nicht nachgewiesen werden. Eine Verfälschung von Kümmelölen mit (*R*)-Carvon ist aufgrund der verschiedenen Geruchseindrücke der Enantiomeren nicht zu erwarten.

## 2.4.2 Quantifizierung der Hauptkomponenten von Kümmelölen

Bei den untersuchten authentischen Proben handelt es sich um ätherische Öle, die aus Kümmelsamen mittels Wasserdampfdestillation gewonnen wurden. Weiterhin wurden kommerziell erhältliche Kümmelöle verschiedener Hersteller analysiert. Die Identifizierung von Limonen und Carvon (vgl. **Abb. 34.**) in Kümmelölen erfolgte mittels GC-MS über den Vergleich der Retentionszeiten und Massenspektren mit denen von Standardsubstanzen.

In **Tab. 25.** sind die prozentualen Gehalte von Limonen und Carvon der untersuchten Kümmelöle zusammengefasst.



**Abb. 34.** Strukturformeln von Limonen und Carvon

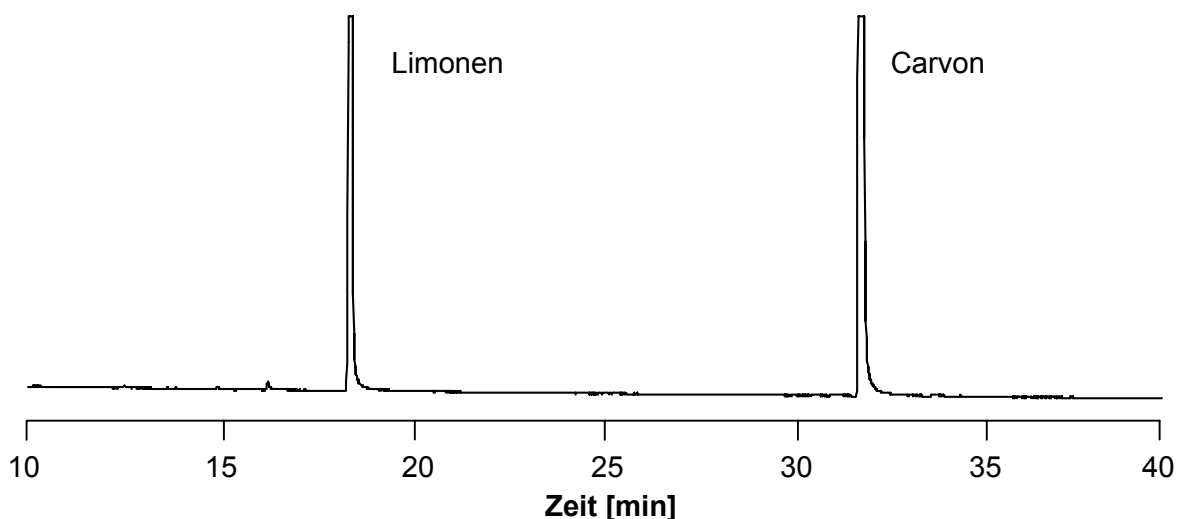
**Tab. 25.** Gehalte von Limonen und Carvon in Kümmelöle in Flächenprozent [%]

|                        | Limonen<br>[%] | Carvon<br>[%] |
|------------------------|----------------|---------------|
| authentische Kümmelöle | 37,5 – 46,4    | 53,1 – 62,3   |
| kommerzielle Kümmelöle | 13,0 – 47,7    | 51,3 – 86,5   |

Der Limonengehalt der authentischen Kümmelöle liegt zwischen 37,5 und 46,4 %, der Carvongehalt im Bereich von 53,1 und 62,3 %. Die ermittelten Bereiche stimmen mit den Angaben des Deutschen Arzneibuchs überein. Die für die meisten kommerziellen Öle ermittelten Gehalte für die Hauptkomponenten liegen im selben Bereich. Nur bei einer kommerziellen Probe liegt der Limonengehalt mit 13,0 % sehr niedrig und der Carvongehalt mit 86,5 % sehr hoch. Diese Gehalte liegen



deutlich außerhalb der im Deutschen Arzneibuch angegebenen Limonen- und Carvongehalte.



**Abb. 35.** GC-MS-Chromatogramm eines authentischen Kümmelöls

### 2.4.3 Enantioselektive Analyse von Limonen und Carvon mittels enantio-MDGC-MS

Da die Hauptkomponenten Limonen und Carvon in Kümmelölen enantiomerenrein vorkommen [(*R*)-Limonen und (*S*)-Carvon], bietet sich die enantioselektive Analyse dieser Komponenten zur Echtheitsbewertung der ätherischen Öle an<sup>52, 53</sup>.

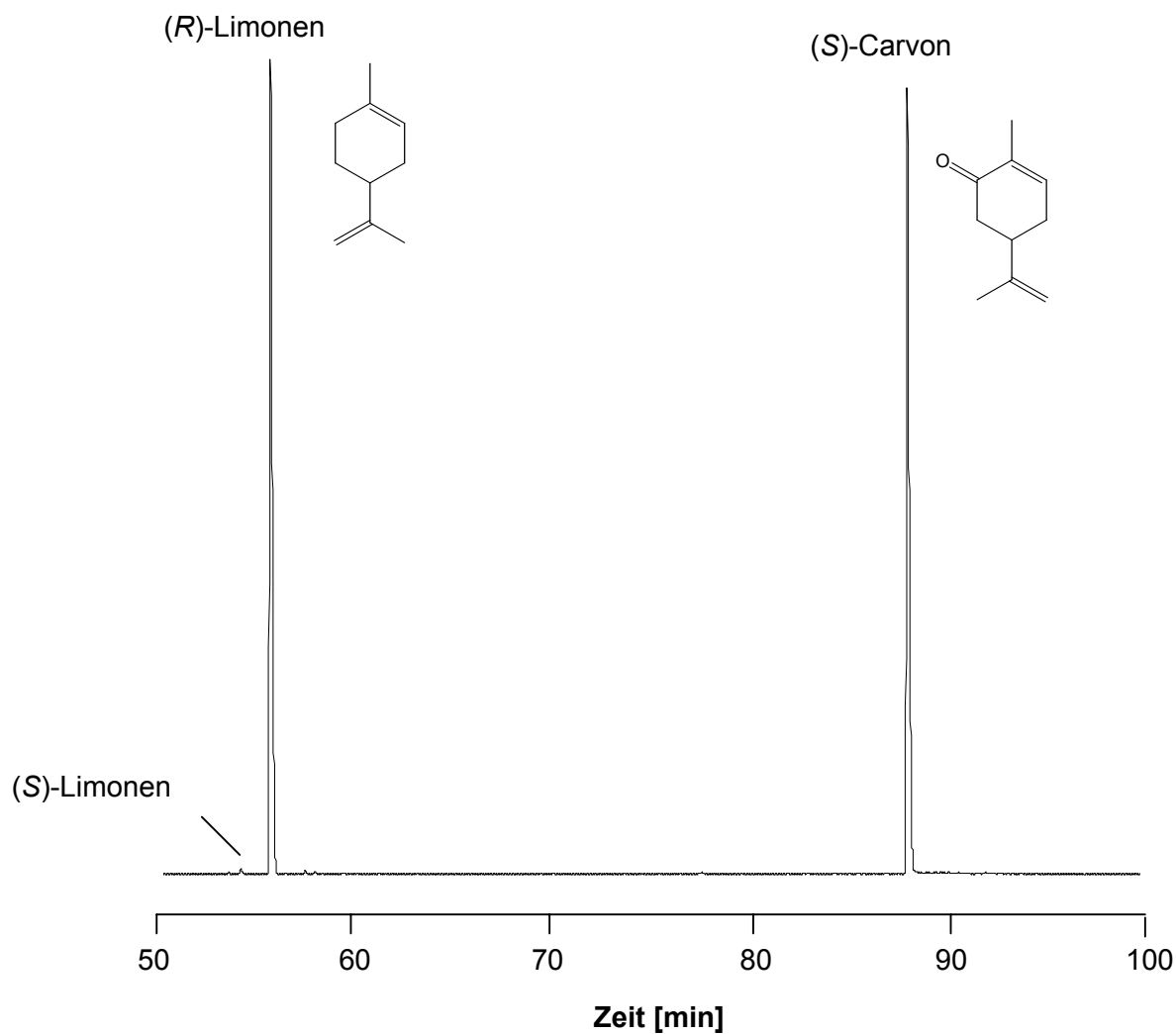
Die Enantiomerenverhältnisse von Limonen und Carvon in den untersuchten Kümmelölen sind in **Tab. 26.** zusammengefasst.

**Tab. 26.** Enantiomerenverhältnisse [%] der authentischen Kümmelöle

|                        | Limonen             |                     | Carvon              |                     |
|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                        | ( <i>S</i> )<br>[%] | ( <i>R</i> )<br>[%] | ( <i>S</i> )<br>[%] | ( <i>R</i> )<br>[%] |
| authentische Kümmelöle | < 1                 | > 99                | > 99                | < 1                 |
| kommerzielle Kümmelöle | < 1                 | > 99                | > 92                | < 8                 |

In den untersuchten authentischen Kümmelölen kommt Carvon enantiomerenrein zugunsten des (*S*)-Carvon (> 99 %) vor und der (*R*)-Limonengehalt liegt ebenfalls über 99 %. Bei den kommerziellen Kümmelölen liegt der (*R*)-Limonengehalt bei allen Proben über 99 %. Bei einem Öl liegt der (*R*)-Carvongehalt bei 8 %. Dieser Gehalt entspricht nicht dem natürlich vorkommenden Enantiomerenverhältnis von Carvon in Kümmelölen.

**Abb. 36.** zeigt die Enantiomerentrennung von Limonen und Carvon eines Kümmelöls unter Verwendung von Heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin in SE 52 als stationären Phase.



**Abb. 36.** Hauptsäulenchromatogramm eines mittels Wasserdampfdestillation gewonnenen Kümmelöls

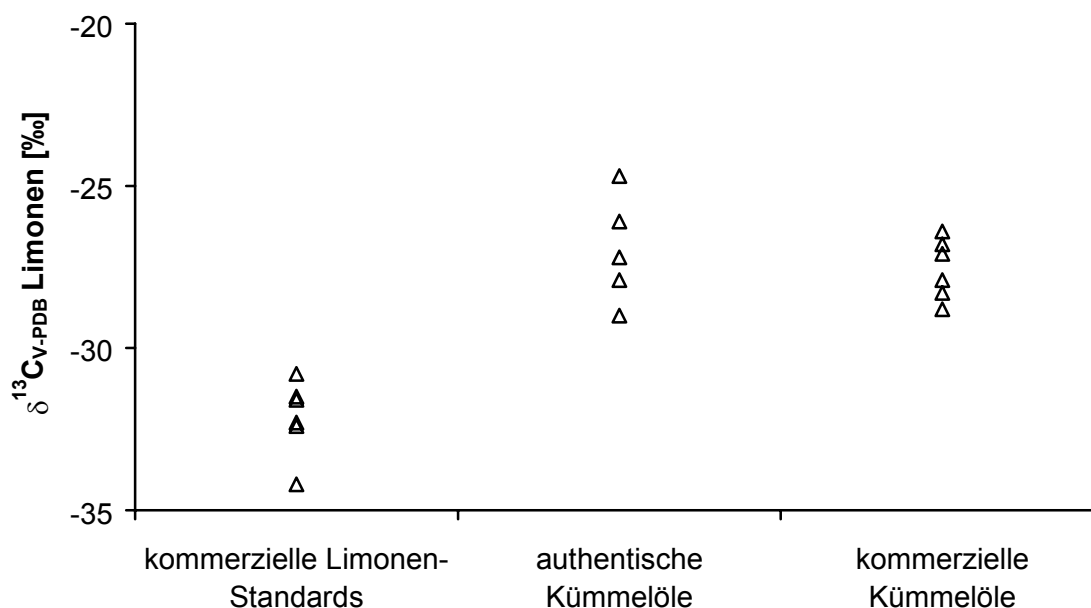
## 2.4.4 Isotopenmassenspektrometrische Analyse

### 2.4.4.1 Bestimmung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon mittels GC-C-IRMS

In **Tab. 27.** sind die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche der kommerziell erhältlichen Limonen-Standards sowie von Limonen aus den authentischen und kommerziellen Kümmelölen aufgeführt. Die Einzelwerte aller Proben sind in **Abb. 37.** dargestellt.

**Tab. 27.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] von Limonen

| Limonen                | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche<br>[‰] | n |
|------------------------|---|---|
| Limonen-Standards      | -30,8 – -34,2   | 6 |
| authentische Kümmelöle | -24,7 – -29,0   | 5 |
| kommerzielle Kümmelöle | -26,4 – -28,8   | 6 |



**Abb. 37.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Limonen unterschiedlicher Herkunft

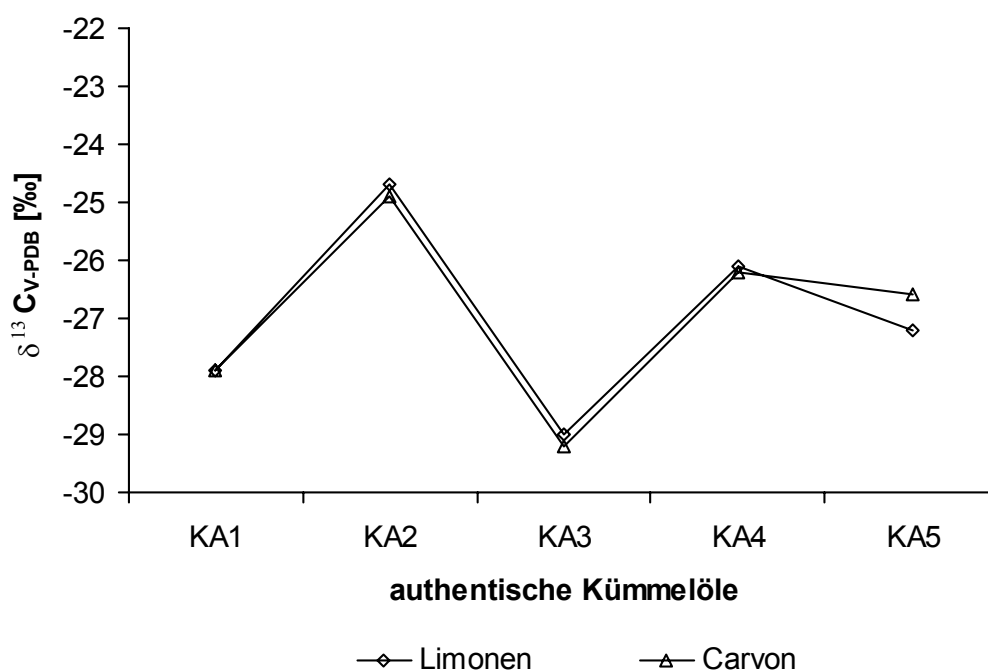
Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte der Limonen-Standards liegen im Bereich von -30,8 – -34,2 ‰ und somit negativer als die Isotopenverhältnisse von Limonen aus den authentischen Kümmelölen ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereich = -24,7 – -29,0 ‰). Die ermittelten  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte für die kommerziellen Öle liegen im gleichen Bereich wie die der authentischen.

Da die meisten Chemikalienhersteller/-vertreiber Limonen überwiegend enantiomerenrein anbieten, wurden sowohl enantiomerenreine als auch racemische Standards untersucht. Die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse aller Limonen-Standards lagen im gleichen Bereich.

Der authentische Bereich der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse von Carvon in Kümmelölen liegt zwischen  $-24,9$  –  $-29,2$  ‰. Die für Carvon aus kommerziellen Kümmelölen ermittelten Isotopenverhältnisse liegen im gleichen Bereich

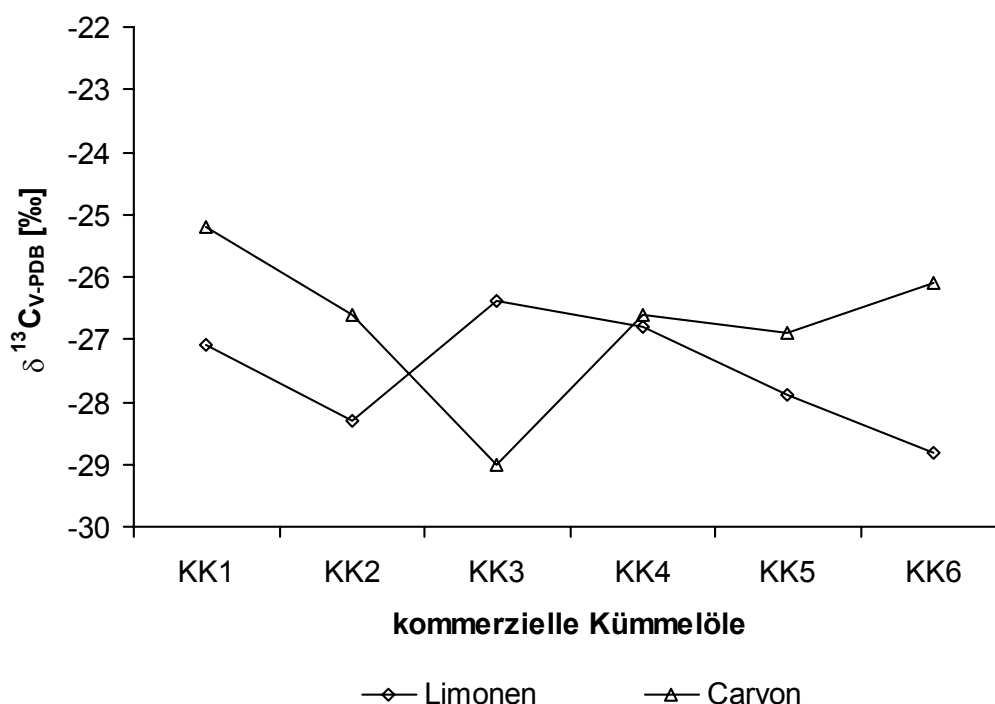
**Tab. 28.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] von Carvon

| Carvon                 | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereiche [‰] | n |
|------------------------|--|---|
| authentische Kümmelöle | $-24,9$ – $-29,2$                                  | 5 |
| kommerzielle Kümmelöle | $-26,4$ – $-29,0$                                  | 6 |



**Abb. 38.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Limonen und Carvon aus authentischen Kümmelölen

In **Abb. 38.** sind die Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon der authentischen Kümmelöle aufgetragen. Die Werte der Komponenten weisen nur sehr geringe Unterschiede auf. Aufgrund der Biosynthesesequenz (Limonen  $\rightarrow$  *trans*-Carveol  $\rightarrow$  Carvon) sind diese geringen Abweichungen der Isotopenverhältnisse zu erwarten. Die größte Abweichung der bestimmten Isotopenverhältnisse der beiden Komponenten liegt bei  $0,6$  ‰.

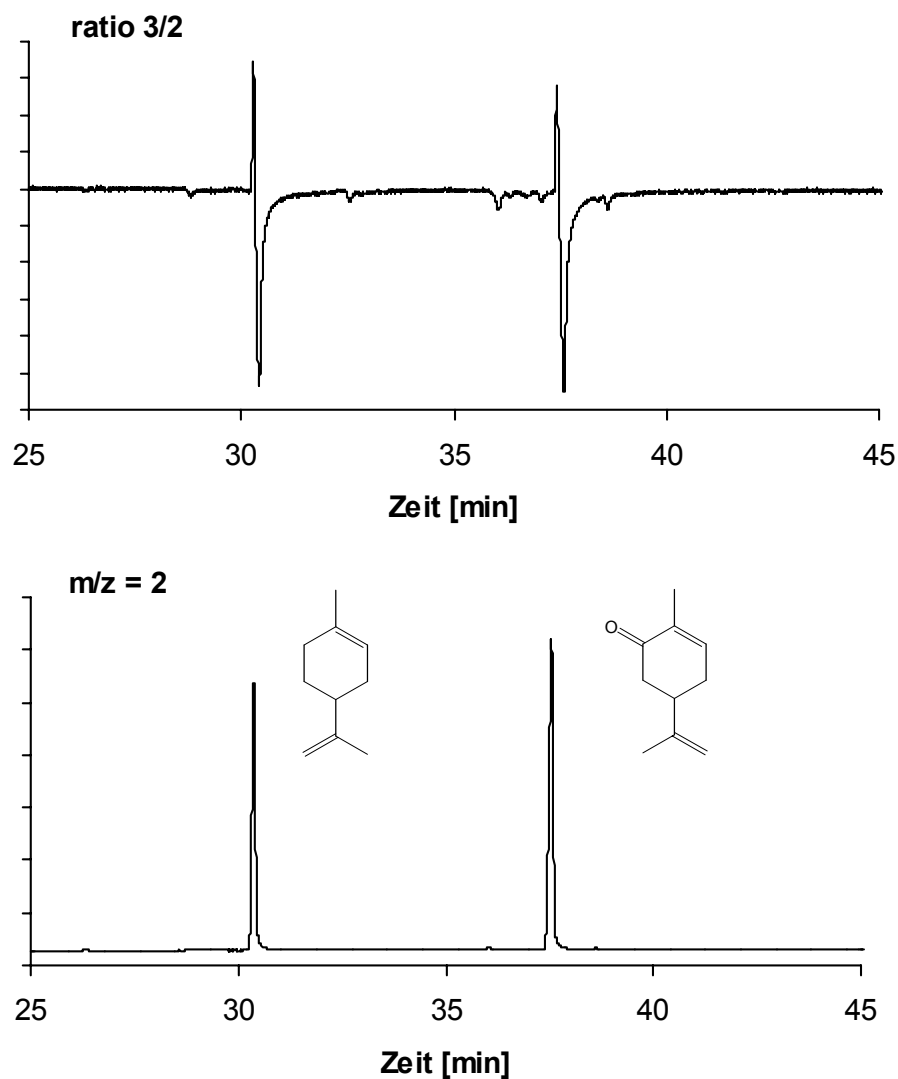


**Abb. 39.**  $\delta^{13}\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen und Carvon aus kommerziellen Kümmelölen

Wie aus **Abb. 39.** ersichtlich ist, sind die Unterschiede zwischen den Isotopenverhältnissen von Limonen und Carvon einiger kommerzieller Kümmelöle mit bis zu 2,7 ‰ deutlich größer als bei den authentischen Ölen.

#### 2.4.4.2 Bestimmung der $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon mittels GC-P-IRMS

Ein möglicher Einfluss der Wasserdampfdestillation auf die bestimmten  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse wurde überprüft, indem ein Limonen und ein Carvon-Standard unter denselben Bedingungen wie die Kümmelsamen wasserdampfdestilliert wurde. Die bestimmten Isotopenverhältnisse stimmen unter Berücksichtigung der Standardabweichung überein (Limonen:  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -232 \text{ ‰} \pm 2 \text{ ‰}$  bzw.  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -227 \text{ ‰} \pm 3 \text{ ‰}$ , Carvon:  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -201 \text{ ‰} \pm 2 \text{ ‰}$  bzw.  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}} = -202 \text{ ‰} \pm 2 \text{ ‰}$ ). Somit kann ein Einfluss der Probenaufarbeitung auf die bestimmten Isotopenverhältnisse ausgeschlossen werden. **Abb. 40.** zeigt ein GC-P-IRMS-Chromatogramm eines Kümmelöls.

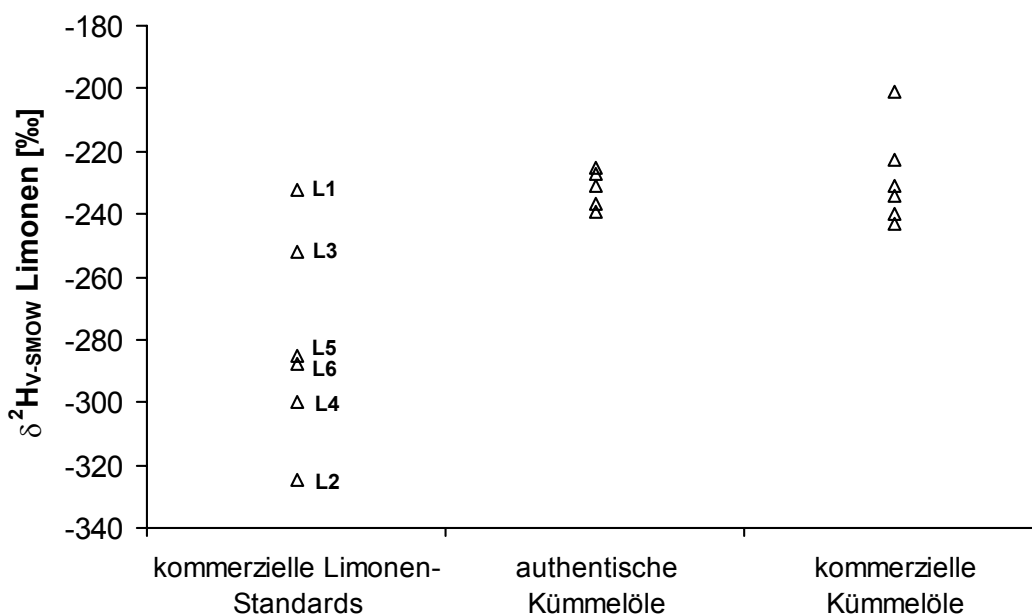


**Abb. 40.** GC-P-IRMS-Chromtogramm eines Kümmelöls

In **Tab. 29.** sind die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Bereiche der Limonen-Standards sowie von Limonen aus authentischen und kommerziellen Kümmelölen aufgeführt. Die Einzelwerte aller Proben sind in **Abb. 41.** dargestellt.

**Tab. 29.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Bereiche [‰] von Limonen

| Limonen                | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Bereiche<br>[‰] | n |
|------------------------|---|---|
| Limonen-Standards      | -232 – -325   | 4 |
| authentische Kümmelöle | -225 – -239   | 5 |
| kommerzielle Kümmelöle | -201 – -243   | 6 |



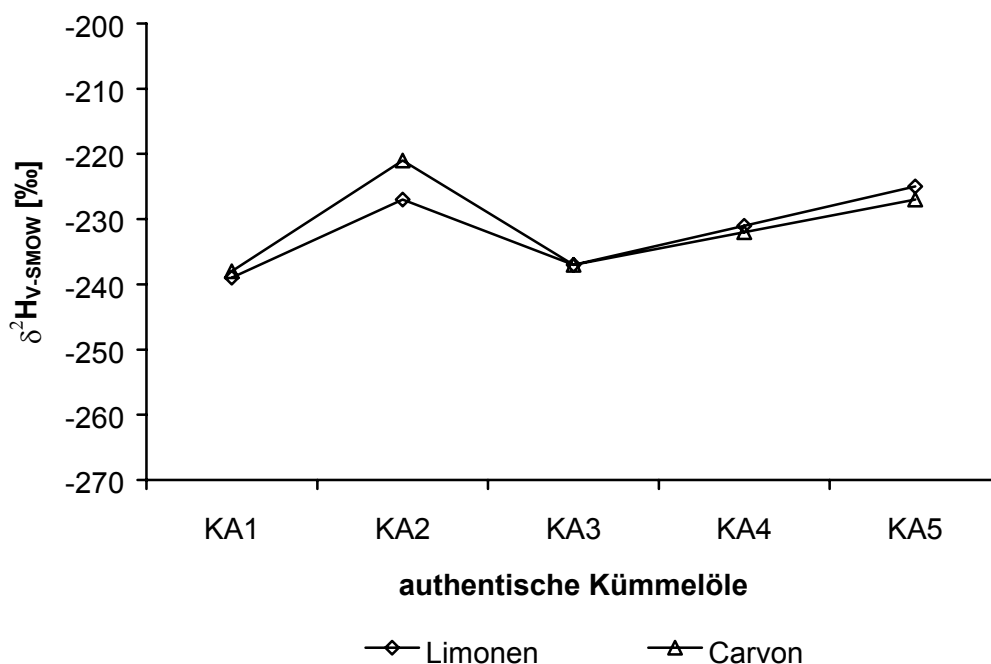
**Abb. 41.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen unterschiedlicher Herkunft

Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen der authentischen Kümmelöle liegen in einem engen Bereich von -225 bis -239 ‰. Dagegen streuen die Isotopenverhältnisse der kommerziellen Limonen-Proben über einen weiten Bereich (-232 – -325 ‰). Die Isotopenverhältnisse der untersuchten racemischen Limonen-Standards (Probenbezeichnung L5 und L6) liegen mit -285 ‰ und -288 ‰ deutlich außerhalb des authentischen Bereichs. Ebenso sind die ermittelten Isotopenverhältnisse für die (R)-Limonen-Standards deutlich negativer als die Werte von Limonen aus den authentischen Kümmelölen. (R)-Limonen fällt bei der Produktion von Orangensaft in großen Mengen als Nebenprodukt an, daher ist davon auszugehen, dass die kommerziell erhältlichen (R)-Limonen-Standards aus dieser Quelle stammen<sup>48</sup>. Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der untersuchten (S)-Limonen-Standards (Probenbezeichnung L1 und L3) liegen mit -232 ‰ und -252 ‰ im selben Bereich wie die Isotopenverhältnisse des Limonens aus den authentischen Kümmelölen. (S)-Limonen wird aus ätherischen Ölen, z.B. Minzölen isoliert<sup>48</sup>.

**Tab. 30.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Bereiche [‰] von Carvon

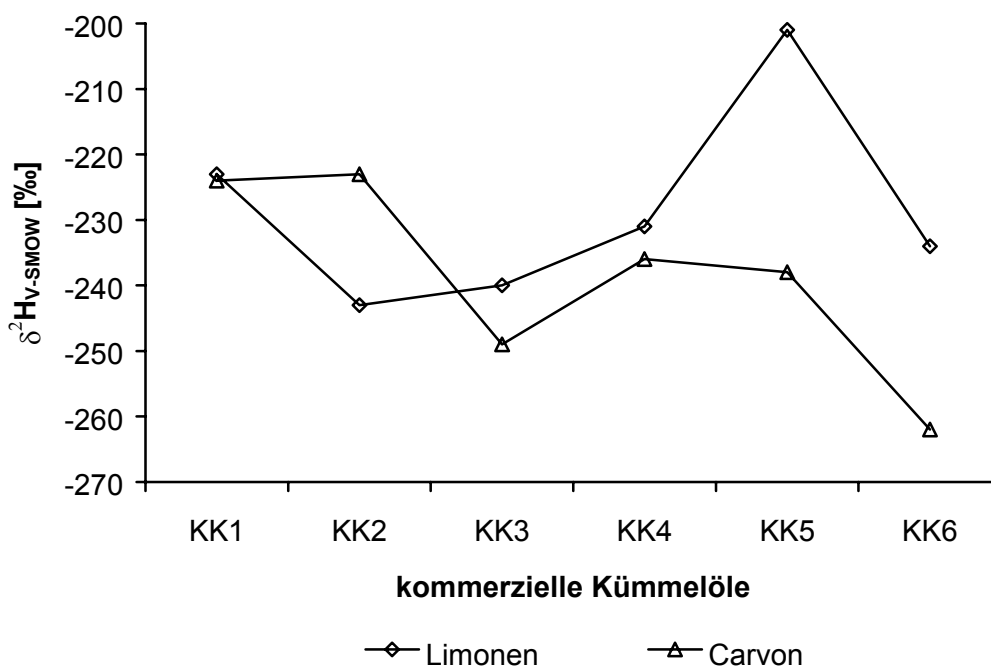
| Carvon                 | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Bereiche [‰] | n |
|------------------------|--|---|
| authentische Kümmelöle | -221 – -238                                      | 5 |
| kommerzielle Kümmelöle | -223 – -249                                      | 6 |

Die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Carvon in den authentischen Kümmelölen liegen im Bereich von -221 – -238 ‰. Die für Carvon aus kommerziellen Kümmelölen ermittelten Werte liegen im selben Bereich.



**Abb. 42.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen und Carvon aus authentischen Kümmelölen

In **Abb. 42.** sind die Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon der authentischen Kümmelöle aufgetragen. Die Werte der Komponenten weisen nur sehr geringe Unterschiede auf. Aufgrund der Biosynthese (Limonen  $\rightarrow$  *trans*-Carveol  $\rightarrow$  Carvon) sind diese geringen Abweichungen der Isotopenverhältnisse zu erwarten. Die größte ermittelte Abweichung der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der beiden Komponenten liegt bei 6 ‰.



**Abb. 43.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen und Carvon aus kommerziellen Kümmelölen



Die ermittelten Isotopenverhältnisse für Carvon und Limonen in den kommerziellen Kümmelölen weichen zum Teil deutlich voneinander ab (vgl. **Abb. 43.**). Große Abweichungen der Werte (bis zu 37 %) liegen bei den Proben KK2, KK5 und KK6 vor.

Die Bestimmung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen und Carvon in Kümmelölen hat gezeigt, dass die Isotopenverhältnisse beider Komponenten in den authentischen Ölen nur geringe Abweichungen aufweisen. Dagegen zeigten einige der untersuchten kommerziell erhältlichen Öle deutlich größere Unterschiede zwischen den ermittelten Werten der beiden Komponenten. Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte der kommerziell erhältlichen Limonen-Standards liegen mit einem Bereich von -30,8 bis -34,2 ‰ negativer als die Isotopenverhältnisse von Limonen aus den authentischen Kümmelölen ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Bereich = -24,7 – -29,0 ‰). Die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der kommerziell erhältlichen Limonen-Standards streuen über einen weiten Bereich (-232 – -325 ‰). Die Isotopenverhältnisse der untersuchten racemischen Standards sowie der (R)-Limonen-Standards liegen deutlich negativer als die des Limonen aus den authentischen Kümmelölen. Dagegen liegen die  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte der untersuchten (S)-Limonen-Standards im selben Bereich wie die des Limonens aus Kümmelölen. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass eine Verfälschung von Kümmelölen mit Limonen aufgrund der Bestimmung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von Limonen möglich ist. Weiterhin lassen sich möglicherweise über die Differenz der Isotopenverhältnisse von Carvon und Limonen weitere Schlüsse hinsichtlich einer Verfälschung mit einer der beiden Komponenten ziehen.

### 3 Zusammenfassung

Als Grundlage für die Beurteilung der Echtheit ätherischer Öle können zwei biochemische Prinzipien – Enantioselektivität und Isotopendiskriminierung während der Biosynthese – herangezogen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die enantioselektive Kapillargaschromatographie sowie die online-Kopplung der Gaschromatographie mit der Isotopenmassenspektrometrie zur Authentizitätsbewertung verschiedener ätherischer Öle eingesetzt.

Die Bestimmung von Enantiomerenverhältnissen mittels Multidimensionaler Gaschromatographie-Massenspektrometrie (MDGC-MS) sowie von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-C-IRMS (Gaschromatographie-Combustion-Isotopenmassenspektrometrie) sind etablierte Methoden, die in der Authentizitätsbewertung von Aroma- und Duftstoffen eingesetzt werden. Dagegen ist die Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS (Gaschromatographie-Pyrolyse-Isotopenmassenspektrometrie) eine relativ neue Methode.

In der vorliegenden Arbeit wurden Strategien zur Bestimmung von zuverlässigen  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS entwickelt. Die Kalibrierung des Referenzgases mit Hilfe von internationalen Standards kann nur mittels eines Elemental Analyzers (EA-IRMS) erfolgen, da für die Gaschromatographie geeignete Standards nicht zur Verfügung stehen. Daher ist insbesondere der Vergleich von Isotopenverhältnissen von Standardsubstanzen, die mittels TC/EA-IRMS und GC-P-IRMS bestimmt wurden, von Bedeutung. Es konnte gezeigt werden, dass eine Konditionierung (Einbringen einer Kohlenstoffschicht) des Pyrolysereaktors im GC-P-IRMS-System notwendig ist, um für die untersuchten Aromastoffe mittels GC-P-IRMS zum Elemental Analyzer vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Von zwei verschiedenen getesteten Methoden zur Konditionierung des Pyrolysereaktors war die Konditionierung durch Einleiten von Methan in den Pyrolysereaktor die geeignetere und effektivere Methode. Weiterhin wurden der Einfluss des Trägergasflusses des Gaschromatographen auf die bestimmten Isotopenwerte sowie der lineare Bereich der Methode untersucht. Es konnte erstmalig gezeigt werden, dass die mittels GC-P-IRMS bestimmten Isotopenverhältnisse von verschiedenen Parametern abhängig sind. Richtige Ergebnisse zu erzielen setzt folgende Konditionen voraus: Konditionierung des Pyrolysereaktors, optimaler Trägergasfluss sowie Mindestmenge des Analyten ( $> 0,3 \mu\text{g}$  on column).

Die neuen Möglichkeiten, die die online-Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen in der Authentizitätsbewertung von Lavendelölen, Anis- und Fenchelölen sowie Kümmelölen bietet, wurden erstmalig untersucht. Darüber hinaus wurden die enantioselektive Kapillargaschromatographie und die Bestimmung von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-C-IRMS eingesetzt.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Bereiche der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Linalool und Linalylacetat aus authentischen Lavendelölen deutlich vom Bereich der

Isotopenverhältnisse kommerziell erhältlicher, synthetischer Analoga unterscheiden und somit eine Verfälschung von Lavendelölen mit synthetischem Linalool und/oder Linalylacetat nachweisbar ist. Mit dieser Methode konnten diverse Handelsöle eindeutig als verfälscht beurteilt werden. Über die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat dieser Öle konnte die Aussage bestätigt werden (hohe Reinheit zugunsten des (*R*)-Enantiomeren in genuinen Lavendelölen). Anhand der unterschiedlichen  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse ist eine Unterscheidung zwischen synthetischem und Linalylacetat aus Lavendel möglich. Die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von synthetischem und natürlichem Linalool aus Lavendelölen liegen im gleichen Bereich und sind somit zur analytischen Differenzierung natürlich/naturidentisch nicht geeignet.

Mittels GC-C(P)-IRMS Analyse von *trans*-Anethol aus Fenchel- und Anisölen wurden die authentischen Bereiche der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse ermittelt. Es konnte gezeigt werden, dass sich einige der synthetischen *trans*-Anethol-Muster nur aufgrund eines der beiden bestimmten Isotopenverhältnisse von dem authentischen Bereich abgrenzen lassen. Somit konnte gezeigt werden, dass die integrale Betrachtungsweise der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte und der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte biogener Stoffe für die Authentizitätsbewertung von großer Bedeutung ist.

Zur Authentizitätsbewertung von Kümmelölen wurden die Enantiomerenverhältnisse, die  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - und die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse der Hauptkomponenten Limonen und Carvon bestimmt. Aufgrund der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte von Limonen lassen sich keine Unterscheidungen zwischen kommerziell erhältlichen Limonen und Limonen aus Kümmelölen treffen. Dagegen können die  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte von Limonen zur Authentizitätsbewertung von Kümmelölen herangezogen werden.

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Bestimmung von  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels GC-P-IRMS neue Möglichkeiten in der Echtheitsbewertung ätherischer Öle bietet. Insbesondere die integrale Betrachtung von  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ - und  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werten ( $\delta^2\text{H}/\delta^{13}\text{C}$ -Korrelation) wird eine Authentizitätsbewertung künftig noch wesentlich differenzierter möglich machen.

Weitere Perspektiven wird die Bestimmung von  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Isotopenverhältnissen bieten. Die Authentizitätsbewertung anhand der Multielement-Analyse mittels GC-IRMS eröffnet gerade für achirale Aromastoffe Perspektiven, stellt aber auch eine Ergänzung zur enantioselektiven Analytik dar.

## 4 Summary

Enantioselectivity and isotope discrimination during biosynthesis are phenomena, which may serve as endogenous parameter in the authenticity control of flavor compounds.

Enantioselective multidimensional gas chromatography-mass spectrometry (enantio-MDGC-MS) and the online-determination of isotope ratios by means of gas chromatography-isotope mass spectrometry (GC-IRMS) were utilized for authenticity assessment of various essential oils. Albeit enantio-MDGC-MS and gas chromatography-combustion-isotope mass spectrometry (GC-C-IRMS) are well established analytical techniques, gas chromatography-pyrolysis-isotope mass spectrometry (GC-P-IRMS) is a comparatively new method for the online-determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  isotope ratios in the authenticity assessment of flavor compounds.

In this work the determination of  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  values via GC-P-IRMS have been validated. Due to the lack of suitable international standards for GC-P-IRMS, the reference gas has to be calibrated via the TC/EA-IRMS (high temperature conversion elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer). Therefore, the comparison of isotope values of standard substances determined via TC/EA-IRMS and GC-P-IRMS is essential for the measurement of accurate isotope values. It could be shown, that conditioning (carbon layer in the reactor) of the pyrolysis reactor is required in order to determine isotope values by GC-P-IRMS, that are in good agreement with those of TC/EA-IRMS. The conditioning of the pyrolysis reactor using methane turned out to be suitable. Furthermore, the influence of the carrier gas flow of the gas chromatograph on the  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  values and the linear range of the method were studied. It could be demonstrated that these conditions are important parameters to get reliable  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  values by GC-P-IRMS measurements.

The online-determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  isotope ratios via GC-P-IRMS was applied to the authenticity control of lavender, anise, fennel and caraway oils for the first time. Furthermore, online-determination of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios and enantioselective capillary gas chromatography was applied.

It could be shown, that samples of natural linalool and linalyl acetate of lavender oils can be clearly distinguished from those of synthetic origin on the basis of the  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  values. Thus, a blend of lavender oil with synthetic linalool and/or linalyl acetate is clearly detectable. Some commercially available lavender oils were proved to be adulterated by fraudulent addition of synthetic linalool and linalyl acetate. These results are in full accordance with the enantiomeric analysis of linalool and linalyl acetate, both showing (*R*)-configuration in genuine lavender oils.

$\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  values of *trans*-anethole in fennel and anise oils were investigated in view of authenticity assessment. It could be shown, that some of the synthetic *trans*-anethole samples can only be distinguished from those of natural origin by means of the combination of the  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios.

The determination of the enantiomeric ratios as well as the  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios of limonene and carvone was applied to the authenticity control of caraway oils. The  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  values of natural and commercially available limonene are in the same range, but limonene in caraway oil can be distinguished from limonene of undefined origin due to its  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  value difference.

The presented data show, that the determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  isotope ratios by GC-P-IRMS opens new perspectives in the authenticity assessment of flavor compounds. Furthermore, the determination of  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  isotope ratios may provide further information.

Multi-element analysis via GC-IRMS is a sophisticated new method in the authenticity control of flavor compounds, representing an alternative to the enantioselective analysis. In particular, it can be applied in order to detect the possible adulteration of essential oils with synthetic compounds of high enantiomeric purity and to detect nonchiral compounds of unnatural origin.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Bestimmung von $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnissen mittels TC/EA- und GC-IRMS

#### 5.1.1 Materialien

Für die Herstellung von Referenzmaterialien zur Überprüfung der Wasserstoffisotopenbestimmung mittels GC-IRMS wurden kommerziell erhältliche Substanzen hoher Reinheit verwendet (**Tab. 31.**). Die Reinheit der verwendeten Standardsubstanzen wurde mittels GC-MS und dünnschichtchromatographisch überprüft.

**Tab. 31.** Standardsubstanzen zur Überprüfung des GC-IRMS-Systems

| Substanz              | Lieferant             | Reinheit     |
|-----------------------|-----------------------|--------------|
| 5-Nonanon             | Fluka, Buchs          | $\geq 97 \%$ |
| Menthol               | EGA-Chemie, Steinheim | $> 99 \%$    |
| Linalool              | Fluka, Buchs          | $\geq 97 \%$ |
| Linalylacetat         | Aldrich, Seelze       | $> 97 \%$    |
| <i>trans</i> -Anethol | Fluka, Buchs          | $> 99,5 \%$  |
| $\gamma$ -Octalacton  | Aldrich, Seelze       | $> 97 \%$    |
| $\gamma$ -Decalacton  | Aldrich, Seelze       | $> 98 \%$    |

Die in **Tab. 31.** aufgeführten Substanzen wurden unter den angegebenen Bedingungen auf Reinheit überprüft.

#### GC-MS-Analyse

**Gaschromatograph:** Fisons Instruments GC 8000  
**Injektor:** Split/Splitless, 230°C  
**Split:** 20 mL/min  
**Trärgas:** Helium, Fluss 1 mL/min  
**Trennsäule:** SE 52, 30 m x 0,25 mm i.d.,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$   
**Temperaturprogramm:** 40°C / 5 min // 2,5°C/min // 250°C / 10 min

**Massenspektrometer:** Fisons Instruments MD 800 Quadrupol  
**Interface-Temperatur:** 250°C  
**Ionenquellen-Temperatur:** 220°C  
**Ionisationsenergie:** 70 eV  
**Datenaufnahme und Auswertung:** MassLab, Version 1.3

**DC**

|                   |   |
|-------------------|---|
| Stationäre Phase: | Kieselgel 60 Fertigplatten F <sub>254</sub> (Merck, Darmstadt), 20 x 20 cm, 2 mm Schichtdicke |
| Fließmittel:      | Pentan/Diethylether (95:5 v/v)  |
| Detektion:        | 1. UV bei $\lambda = 254$ nm<br>2. Anisaldehyd/Schwefelsäure-Reagenz <sup>54</sup>            |

**5.1.2 TC/EA-IRMS Analyse****Kalibrierung des Referenzgases:**

Als Referenzmaterialien für die Kalibrierung des Referenzgases kommen kommerziell erhältliche Referenzsubstanzen der IAEA zum Einsatz. Es handelt sich dabei um eine Polyethylenfolie (IAEA-CH 7) und um ein Öl (NBS 22). Der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  Wert des Referenzgases ergibt sich aus dem Mittelwert der Messungen der Referenzmaterialien (**Tab. 32.**).

**Tab. 32.** Ermittlung des  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wertes [‰] des Referenzgases über die IAEA-Referenzmaterialien IAEA-CH 7 und NBS 22

|           | IAEA-Referenzmaterialien                  | Referenzgas                               |    |
|-----------|---|---|----|
|           | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | n  |
| IAEA-CH 7 | $-100,3 \pm 2,0$                          | $-216,5 \pm 2,4$                          | 60 |
| NBS 22    | $-118,5 \pm 2,8$                          | $-218,5 \pm 2,5$                          | 80 |

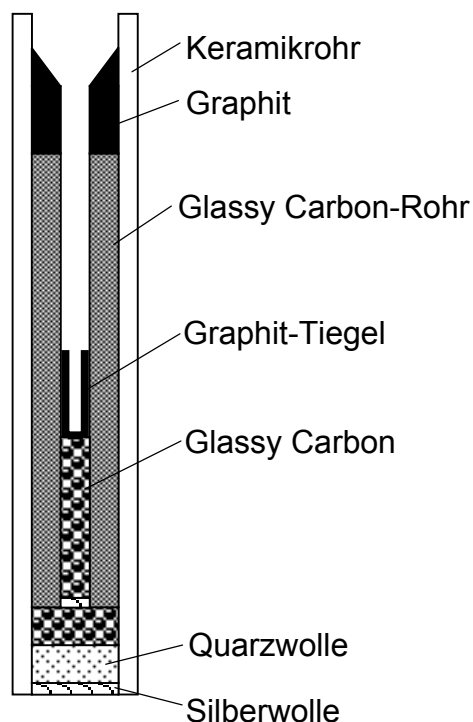
Um die Stabilität des Systems während der Messungen der Standardsubstanzen zu überprüfen, werden die Referenzsubstanzen der IAEA in regelmäßigen Abständen gemessen.

**Probenvorbereitung:**

Die zu untersuchenden Substanzen werden in 3,3 x 5 mm Silber- bzw. Zinnkapseln (IVA Analysentechnik, Meerbusch) gegeben und verschlossen. Bei festen Proben werden circa 400 µg eingewogen und bei flüssigen Proben werden zwischen 0,1 und 0,5 µL pipettiert. Die Silber- bzw. Zinnkapseln gelangen aus dem Probenkarussell des Autosamplers in die Kammer einer Schleuse, die ständig mit einem Heliumstrom gespült wird. Durch Drehung der Schleusenkammer gelangt die Probe direkt in die heiße Zone des Reaktors. Um Verdunstungen und dadurch möglicherweise bedingte Verfälschungen der Analyseergebnisse bei flüssigen Proben auszuschließen, wurden diese erst direkt vor der Messung pipettiert und direkt in die heliumgespülte Schleusenkammer gegeben.

|                            |  |
|----------------------------|--|
| <b>Elemental Analyzer:</b> | High Temperature Conversion Elemental Analyzer (TC/EA), ThermoFinnigan MAT, Bremen |
| <b>Autosampler:</b>        | AS 128 (CE Instruments, Italien)   |

|                    |  |
|--------------------|--|
| Reaktor:           | siehe <b>Abb. 44.</b>  |
| Reaktortemperatur: | 1450 °C  |
| GC-Säule:          | Edelstahlsäule, 2 ft x ¼", i.d.: 4 mm, gepackt mit Molekularsieb 5 Å, 80 – 100 mesh (Chrompack, Frankfurt) |
| GC-Temperatur:     | 110 °C   |
| Trärgas:           | Helium, Fluss 110 mL/min (1,0 bar)   |



**Abb. 44.** Schematischer Aufbau des Reaktors (TC/EA)

|                   |  |
|-------------------|--|
| <b>Interface:</b> | ConFlo III Interface (ThermoFinnigan MAT, Bremen)  |
| Referenzgas:      | Wasserstoff (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,0 bar |
| Helium:           | 0,9 bar  |

|  |   |
|--|---|
| <b>Isotopen-</b><br><b>massenspektrometer:</b> | Delta <sup>plus</sup> XL (ThermoFinnigan MAT, Bremen) |
| Ionenquelle:                                   | beheizt   |
| Ionisierungsenergie                            | 70 eV   |
| Datenaufnahme<br>und Auswertung:               | Isodat, Version 5.4                                   |

### Messdaten

Die Ergebnisse der Bestimmung der Isotopenverhältnisse mittels TC/EA-IRMS sind in **Tab. 33.** aufgeführt.



**Tab. 33.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der Standardsubstanzen ermittelt über TC/EA-IRMS

| Substanz              | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | n  |
|-----------------------|-----------------------------|----|
| 5-Nonanon             | $-89 \pm 3$                 | 16 |
| Menthol               | $-242 \pm 3$                | 10 |
| Linalool              | $-190 \pm 4$                | 10 |
| Linalylacetat         | $-181 \pm 4$                | 12 |
| <i>trans</i> -Anethol | $-34 \pm 3$                 | 15 |
| $\gamma$ -Octalacton  | $-71 \pm 3$                 | 25 |
| $\gamma$ -Decalacton  | $-191 \pm 3$                | 27 |

### 5.1.3 GC-P-IRMS Analyse

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>Gaschromatograph:</b>         | HP 6890   |
| Autosampler:                     | A200S (CTC Analytics, Schweiz)  |
| Injektor:                        | Split/Splitless, 240°C, Splitless   |
| Trärgas:                         | Helium, Fluss variiert von 0,8 mL/min – 3,0 mL/min                        |
| Trennsäule:                      | VB 5, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,5 \mu m$ (ValcoBond, Gig Harbor, USA) |
| Temperaturprogramm:              | 40°C / 30 min // 2°C/min // 120°C / 0 min // 5°C/min // 240°C             |
| <b>Interface:</b>                | GC-Combustion-Interface III (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                  |
| Referenzgas:                     | Wasserstoff (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,0 bar                        |
| Helium:                          | 0,8 bar   |
| Pyrolysereaktor:                 | Keramikrohr ( $Al_2O_3$ ), 320 mm x 0,5 mm i.d.                           |
| Temperatur des Pyrolysereaktors: | 1440°C  |
| Wasserseparator:                 | NAFION™ (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.                        |
| <b>Isotopen-</b>                 |   |
| <b>massenspektrometer:</b>       | Delta <sup>plus</sup> XL (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                     |
| Ionenquelle:                     | beheizt   |
| Ionisierungsenergie              | 70 eV   |
| Datenaufnahme und Auswertung:    | Isodat, Version 5.4   |

**Tab. 34.** Retentionszeiten [min] der Standardsubstanzen

| Substanz             | Retentionszeit<br>[min] |
|----------------------|-------------------------|
| 5-Nonanon            | 59,0                    |
| Linalool             | 61,5                    |
| Menthol              | 67,5                    |
| Linalylacetat        | 73,3                    |
| $\gamma$ -Decalacton | 81,8                    |

**Bedingungen der Messungen mittels GC-P-IRMS**

Die Kalibrierung des Referenzgases erfolgte wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben.

Jede Substanz bzw. Mischung wurde mittels GC-P-IRMS mindestens fünfmal vermessen, wobei die Standardabweichung der Messungen zwischen 1-3 ‰ liegt.

**Konditionierung des Pyrolysereaktors***Konditionierung mit Hexan*

Zur Konditionierung mit Hexan wird 1  $\mu$ L Hexan in den GC injiziert, dabei befindet sich das System im Straight-Mode, d. h. das GC-Eluat gelangt über den Pyrolysereaktor und den Open-split in das MS. Sobald ein Signal registriert wird ( $m/z$  2 und 3), wird in den Backflush-Mode geschaltet und der Open-split wird ebenfalls geschaltet. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt.

*Konditionierung mit Methan*

Zur Konditionierung des Pyrolysereaktors wird Methan (Fluss 1 mL/min) in Gegenrichtung durch den Reaktor geleitet (5 min bei 1440°C), das System befindet sich im Backflush-Mode.

**Messdaten**

Die Ergebnisse der Messungen der Tertiärstandards mittels GC-P-IRMS sind in **Tab. 35.** bis **Tab. 40.** aufgeführt.

**Tab. 35.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der Tertiärstandards mittels GC-P-IRMS ohne und mit Konditionierung des Pyrolysereaktors,  $n = 10$ 

| Substanz             | GC-P-IRMS                   | GC-P-IRMS                   |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                      | ohne Konditionierung        | mit Konditionierung         |
|                      | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| 5-Nonanon            | -247                        | -95                         |
| Menthol              | -260                        | -239                        |
| Linalool             | -242                        | -197                        |
| Linalylacetat        | -228                        | -181                        |
| $\gamma$ -Decalacton | -210                        | -187                        |

**Tab. 36.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der Tertiärstandards in Abhängigkeit des Trägergasflusses des Gaschromatographen,  $n = 10$ 

| Trägergasfluss<br>[mL/min] | 5-Nonanon<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | Linalool<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | Menthol<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | Linalylacetat<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\gamma$ -Decalacton<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
|----------------------------|--|---|--|--|---|
| 0,8                        | -95                                      | -197                                    | -239                                   | -181   | -187  |
| 1,2                        | -114                                     | -210                                    | -251                                   | -202   | -203  |
| 1,8                        | -119                                     | -213                                    | -254                                   | -206   | -205  |
| 3,0                        | -118                                     | -211                                    | -258                                   | -212   | -208  |

**Tab. 37.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von 5-Nonanon in Abhängigkeit der Peakintensität

| Amplitude<br>[V] | 5-Nonanon<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
|------------------|--|
| 0,9              | -66                                      |
| 2,3              | -82                                      |
| 2,8              | -86                                      |
| 3,8              | -90                                      |
| 4,8              | -93                                      |
| 5,7              | -95                                      |
| 6,5              | -99                                      |

**Tab. 38.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von Linalool in Abhängigkeit der Peakintensität

| Amplitude<br>[V] | Linalool<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
|------------------|---|
| 1,0              | -187                                    |
| 2,3              | -194                                    |
| 2,8              | -197                                    |
| 3,7              | -196                                    |
| 4,6              | -196                                    |
| 5,4              | -197                                    |
| 6,5              | -196                                    |

**Tab. 39.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von Menthol in Abhängigkeit der Peakintensität

| Amplitude<br>[V] | Menthol<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
|------------------|--|
| 1,1              | -226                                   |
| 2,6              | -238                                   |
| 3,2              | -238                                   |
| 4,1              | -240                                   |
| 5,0              | -243                                   |
| 6,0              | -243                                   |
| 6,8              | -243                                   |

**Tab. 40.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von  $\gamma$ -Decalacton in Abhängigkeit der Peakintensität

| Amplitude<br>[V] | $\gamma$ -Decalacton<br>$\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
|------------------|---|
| 1,2              | -169  |
| 2,6              | -182  |
| 3,1              | -186  |
| 3,8              | -190  |
| 4,6              | -190  |
| 5,3              | -193  |
| 5,9              | -193  |

## 5.2 Authentizität von Lavendel-, Lavandin- und Spikölen

### 5.2.1 Materialien

Bei den Probenmaterialien handelt es sich einerseits um aus intaktem, frischem Pflanzenmaterial isolierte ätherische Öle und andererseits um kommerziell erhältliche Öle.

Intaktes Pflanzenmaterial definierter botanischer Herkunft (*Lavandula angustifolia* MILLER und *Lavandula latifolia*) wurde aus verschiedenen Botanischen Gärten bezogen (Probenbezeichnungen LA1-11 und Spik A1-2).

Die kommerziell erhältlichen Öle wurden aus dem Handel erworben oder direkt von den Herstellern zur Verfügung gestellt (vgl. **Tab. 41.** bis **Tab. 43.**). Bei allen untersuchten kommerziellen Ölen handelte es sich laut Deklaration um natürliche Lavendel-, Lavandin- und Spiköle.

**Tab. 41.** Kommerziell erhältliche Lavendelöle

| Probe | Bezeichnung               | Hersteller/Vertreiber            |
|-------|---------------------------|----------------------------------|
| LK1   | Lavendelöl „Mont Blanc“   | Caesar & Loretz GmbH, Hilden     |
| LK2   | Lavendelöl                | Allos Walter Lang, Mariendrebber |
| LK3   | Lavendelöl                | Apotheke am Rathaus, Dettelbach  |
| LK4   | Lavendelöl                | Spinnrad GmbH, Gelsenkirchen     |
| LK5   | Lavendelöl                | unbekannt                        |
| LK6   | Lavendelöl                | unbekannt                        |
| LK7   | Lavendelöl DAB 9          | Mainland, Frankfurt              |
| LK8   | Lavendelöl „Barême extra“ | Rose Eggert, Sachsenheim         |
| LK9   | Lavendelöl „Mont Blanc“   | Caesar & Loretz GmbH, Hilden     |
| LK10  | Lavendelöl                | Bergland Pharma, Heimertingen    |
| LK11  | Lavendelöl „Mont Blanc“   | Rose Eggert, Sachsenheim         |
| LK12  | Lavendelöl, fein extra    | Rose Eggert, Sachsenheim         |
| LK13  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK14  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK15  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK16  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK17  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK18  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK19  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK20  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK21  | Lavendelöl                | unbekannt                        |
| LK22  | Lavendelöl „Matherone“    | Kaders GmbH, Hamburg             |
| LK23  | Lavendelöl traditionell   | Kaders GmbH, Hamburg             |
| LK24  | Lavendelöl „Maillette“    | Kaders GmbH, Hamburg             |
| LK25  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |
| LK26  | Lavendelöl                | Joh. Vögele KG, Lauffen          |

**Tab. 42.** Kommerziell erhältliche Lavandinöle

| Probe       | Bezeichnung                      | Hersteller/Vertreiber   |
|-------------|----------------------------------|-------------------------|
| Lavandin 1  | Lavandinöl                       | Joh. Vögele KG, Lauffen |
| Lavandin 2  | Lavandinöl                       | Joh. Vögele KG, Lauffen |
| Lavandin 3  | Lavandinöl                       | Joh. Vögele KG, Lauffen |
| Lavandin 4  | Lavandinöl                       | Roth, Karlsruhe         |
| Lavandin 5  | Lavandinöl "Abralis"             | Kaders GmbH, Hamburg    |
| Lavandin 6  | Lavandinöl "Super"               | Kaders GmbH, Hamburg    |
| Lavandin 7  | Lavandinöl „Grosso traditionell“ | Kaders GmbH, Hamburg    |
| Lavandin 8  | Lavandinöl "Sumian"              | Kaders GmbH, Hamburg    |
| Lavandin 9  | Lavandinöl "Grosso"              | Kaders GmbH, Hamburg    |
| Lavandin 10 | Lavandinöl                       | Joh. Vögele KG, Lauffen |

**Tab. 43.** Kommerziell erhältliche Spiköle

| Probe  | Bezeichnung | Hersteller/Vertreiber        |
|--------|-------------|------------------------------|
| Spik 1 | Spiköl      | Joh. Vögele KG, Lauffen      |
| Spik 2 | Spiköl      | Joh. Vögele KG, Lauffen      |
| Spik 3 | Spiköl      | Caesar & Loretz GmbH, Hilden |
| Spik 4 | Spiköl      | Aldrich, Seelze              |
| Spik 5 | Spiköl      | Kaders GmbH, Hamburg         |

Weiterhin wurden kommerziell erhältliche Standards der Substanzen Linalool und Linalylacetat untersucht (vgl. **Tab. 44.** und **Tab. 45.**).

**Tab. 44.** Kommerziell erhältliche Linalool-Standards, von den Herstellern als synthetisch (S) bzw. natürlich (N) deklariert

| Probe       | Hersteller/Vertreiber |
|-------------|-----------------------|
| Linalool S1 | Roth, Karlsruhe       |
| Linalool S2 | Merck, Darmstadt      |
| Linalool S3 | Döhler, Darmstadt     |
| Linalool S4 | Fluka, Buchs          |
| Linalool S5 | Lancaster, Frankfurt  |
| Linalool S6 | Acros Organics, Geel  |
| Linalool S7 | Aldrich, Seelze       |
| Linalool N1 | Aldrich, Seelze       |
| Linalool N2 | Kaders GmbH, Hamburg  |
| Linalool N3 | Döhler, Darmstadt     |

**Tab. 45.** Kommerziell erhältliche Linalylacetat-Standards, von den Herstellern als synthetisch (S) bzw. natürlich (N) deklariert

| Probe            | Hersteller/Vertreiber |
|------------------|-----------------------|
| Linalylacetat S1 | Acros Organics, Geel  |
| Linalylacetat S2 | Aldrich, Seelze       |
| Linalylacetat S3 | Aldrich, Seelze       |
| Linalylacetat S4 | Roth, Karlsruhe       |
| Linalylacetat S5 | Aldrich, Seelze       |
| Linalylacetat N1 | Aldrich, Seelze       |
| Linalylacetat N2 | Döhler, Darmstadt     |

## 5.2.2 Probenaufarbeitung

Die Gewinnung des ätherischen Öls aus dem authentischen Pflanzenmaterialien erfolgte einerseits mittels Dampfdestillation und andererseits mittels Diethyletherextraktion.

### Dampfdestillation

Für die Dampfdestillation wurden jeweils ca. 20 g der Blütenstände des Lavendels eingesetzt. Als Apparatur wurde ein Dampfdestillationsaufsatz mit einer dampfbeheizten Ummantelung verwendet. Die Destillationsdauer betrug 30 min.

### Diethyletherextraktion

Ca. 10 g der Lavendel-Blütenstände wurden unter Rühren 2 h mit Diethylether extraktiert. Nach Filtration wurden die gewonnen Extrakte über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde im Stickstoffstrom bei Raumtemperatur entfernt.

Die gewonnen ätherischen Öle wurden in entsprechenden Verdünnungen für die jeweiligen Analysen eingesetzt. Um Isotopendiskriminierungen durch Austauschreaktionen – insbesondere in Bezug auf Deuterium – während der Aufarbeitung auszuschließen, wurden für die Bestimmung der  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse die durch Dampfdestillation und durch Diethyletherextraktion gewonnenen Öle vermessen. Für die Bestimmung der quantitativen Zusammensetzung, der Enantiomerenverhältnisse und der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse wurden die durch Dampfdestillation gewonnenen Öle verwendet. Die kommerziell erhältlichen ätherischen Öle und die Standardsubstanzen wurden direkt nach dem Verdünnen eingesetzt.

## 5.2.3 GC-MS Analyse

Die Identifizierung der einzelnen Inhaltsstoffe von Lavendel-, Lavandin- und Spikölen erfolgte durch den Vergleich der Retentionszeiten und der Massenspektren mit denen von Standardsubstanzen.

**Gaschromatograph:** Fisons Instruments GC 8000  
**Injektor:** Split/Splitless, 230°C  
**Split:** 20 mL/min  
**Trärgas:** Helium, Fluss 1 mL/min  
**Trennsäule:** SE 52, 30 m x 0,25 mm i.d.,  $d_f = 0,25 \mu\text{m}$   
**Temperaturprogramm:** 40°C / 5 min // 2,5°C/min // 250°C / 10 min

**Massenspektrometer:** Fisons Instruments MD 800 Quadrupol  
**Interface-Temperatur:** 250°C  
**Ionenquellen-Temperatur:** 220°C  
**Ionisationsenergie:** 70 eV  
**Datenaufnahme und Auswertung:** MassLab, Version 1.3

**Tab. 46.** Retentionszeiten [min] der identifizierten Komponenten

| Substanz            | Retentionszeit<br>[min] |
|---------------------|-------------------------|
| Octan-3-ol          | 16,4                    |
| Oct-1-en-3-ol       | 17,4                    |
| Limonen             | 19,1                    |
| 1,8-Cineol          | 19,2                    |
| Linalool            | 23,9                    |
| Campher             | 26,2                    |
| Borneol             | 27,8                    |
| Lavandulol          | 28,0                    |
| $\alpha$ -Terpineol | 28,4                    |
| Terpinen-4-ol       | 28,5                    |
| Linalylacetat       | 33,2                    |



### Messdaten

Die nachfolgende Tabellen (**Tab. 47.** bis **Tab. 51.**) zeigen die Ergebnisse der Quantifizierung. Die Quantifizierung wurde über die Berechnung der relativen Flächenprozent vorgenommen.

**Tab. 47.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der authentischen Lavendelöle

| Probe | Octan-3-ol<br>[%] | Oct-1-en-3-ol<br>[%] | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Borneol<br>[%] | Lavan-<br>dulol<br>[%] | Terpinen-<br>-4-ol<br>[%] | Linalyl-<br>acetat<br>[%] |
|-------|-------------------|----------------------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| LA1   | n.n.              | n.n.                 | 1,9            | 0,5               | 13,8            | 0,8            | 0,1                    | 0,7                       | 70,1                      |
| LA2   | n.n.              | 0,1                  | 0,3            | 2,2               | 14,2            | 0,1            | 0,1                    | 0,6                       | 72,9                      |
| LA3   | n.n.              | 0,1                  | 0,2            | 0,2               | 7,6             | 0,1            | 0,1                    | 0,4                       | 80,9                      |
| LA4   | n.n.              | 1,2                  | n.n.           | 0,9               | 61,4            | n.n.           | 1,8                    | 0,1                       | 24,1                      |
| LA5   | 0,2               | n.n.                 | 0,2            | 0,1               | 55,1            | 0,1            | 0,9                    | 4,0                       | 32,4                      |
| LA6   | 0,2               | 0,1                  | 0,1            | 0,1               | 27,6            | 0,2            | 0,3                    | 0,3                       | 63,0                      |
| LA7   | 0,9               | 0,1                  | 0,1            | 0,1               | 18,1            | 0,2            | 0,1                    | 2,2                       | 71,3                      |
| LA8   | 0,3               | 0,1                  | 0,3            | 0,6               | 28,7            | 0,2            | 0,3                    | 15,1                      | 37,8                      |
| LA9   | n.n.              | n.n.                 | n.n.           | 0,1               | 9,1             | 0,2            | 0,1                    | 0,3                       | 81,4                      |
| LA10  | n.n.              | n.n.                 | 0,8            | 2,3               | 29,8            | n.n.           | 0,4                    | 10,3                      | 29,3                      |
| LA11  | 0,2               | 0,1                  | 0,3            | 0,2               | 32,0            | n.n.           | 0,5                    | 10,3                      | 40,4                      |

**Tab. 48.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der authentischen Spiköle

| Probe   | Octan-<br>3-ol<br>[%] | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Cam-<br>pher<br>[%] | Borneol<br>[%] | Lavan-<br>dulol<br>[%] | Terpinen-<br>4-ol<br>[%] | Linalyl-<br>acetat<br>[%] |
|---------|-----------------------|----------------|-------------------|-----------------|---------------------|----------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Spik A1 | n.n.                  | 3,8            | 48,0              | 25,2            | 9,3                 | 1,0            | 0,1                    | 0,1                      | 0,1                       |
| Spik A2 | 0,1                   | 2,2            | 41,7              | 36,7            | 8,7                 | 0,4            | 0,1                    | 0,3                      | 1,9                       |

**Tab. 49.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der kommerziellen Lavendelöle

| Probe | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Campher<br>[%] | Borneol<br>[%] | Lavan-<br>dulol<br>[%] | Terpinen-4-ol<br>[%] | Linalyl-<br>acetat<br>[%] |
|-------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|----------------|------------------------|----------------------|---------------------------|
| LK1   | 4,5            | 2,2               | 48,6            | n.n.           | 0,6            | n.n.                   | n.n.                 | 41,0                      |
| LK2   | 0,6            | 1,9               | 42,7            | 2,8            | 1,1            | n.n.                   | 0,3                  | 45,5                      |
| LK3   | 3,3            | 1,7               | 48,3            | 0,1            | 0,6            | n.n.                   | n.n.                 | 43,9                      |
| LK4   | 4,0            | 2,4               | 42,0            | n.n.           | 0,4            | n.n.                   | n.n.                 | 45,8                      |
| LK5   | 0,2            | 0,2               | 39,0            | n.n.           | 0,4            | n.n.                   | 0,6                  | 53,2                      |
| LK6   | 0,3            | 4,3               | 56,2            | 5,3            | 1,0            | 0,2                    | 0,3                  | 28,0                      |
| LK7   | 1,9            | 1,4               | 43,8            | n.n.           | 0,3            | n.n.                   | n.n.                 | 49,5                      |
| LK8   | 0,7            | 3,6               | 37,6            | 1,5            | 0,4            | n.n.                   | 0,6                  | 50,5                      |
| LK9   | 3,7            | 2,0               | 44,7            | n.n.           | 0,8            | n.n.                   | n.n.                 | 46,6                      |
| LK10  | 0,2            | 0,3               | 33,9            | n.n.           | 0,4            | n.n.                   | 0,9                  | 60,4                      |
| LK11  | n.n.           | n.n.              | 44,2            | 0,3            | 0,3            | n.n.                   | 0,5                  | 50,4                      |
| LK12  | n.n.           | n.n.              | 41,2            | n.n.           | n.n.           | 0,2                    | 3,5                  | 47,6                      |
| LK13  | n.n.           | n.n.              | 25,7            | n.n.           | 1,2            | n.n.                   | 0,8                  | 69,8                      |
| LK14  | n.n.           | n.n.              | 18,2            | 0,4            | 1,3            | n.n.                   | 0,7                  | 77,4                      |
| LK15  | n.n.           | 0,5               | 25,8            | 0,9            | 1,0            | n.n.                   | 0,7                  | 68,6                      |
| LK16  | n.n.           | n.n.              | 30,4            | n.n.           | 1,7            | 0,5                    | 1,2                  | 63,1                      |
| LK17  | n.n.           | n.n.              | 47,3            | 0,3            | 0,4            | n.n.                   | n.n.                 | 50,7                      |
| LK18  | n.n.           | 0,8               | 43,4            | 1,0            | 0,8            | n.n.                   | 1,0                  | 49,9                      |
| LK19  | n.n.           | 1,1               | 43,7            | 1,6            | 1,0            | n.n.                   | 0,5                  | 48,4                      |
| LK20  | n.n.           | n.n.              | 33,1            | 0,3            | 1,0            | n.n.                   | 0,7                  | 62,3                      |
| LK21  | 0,5            | 2,9               | 48,2            | 2,8            | 1,6            | n.n.                   | 0,4                  | 41,1                      |
| LK22  | 0,4            | 1,2               | 15,3            | 0,2            | 0,3            | 0,6                    | 2,4                  | 49,1                      |
| LK23  | 1,0            | n.n.              | 36,3            | n.n.           | n.n.           | n.n.                   | 6,3                  | 40,7                      |
| LK24  | n.n.           | n.n.              | 38,9            | 0,7            | 0,9            | n.n.                   | n.n.                 | 53,7                      |
| LK25  | 0,6            | 1,2               | 42,4            | 0,6            | 1,0            | n.n.                   | n.n.                 | 44,2                      |
| LK26  | n.n.           | 0,9               | 33,5            | 0,5            | 0,7            | n.n.                   | 0,8                  | 41,4                      |

**Tab. 50.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der kommerziellen Lavandinöle

| Probe      | Octan-<br>3-ol<br>[%] | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Cam-<br>pher<br>[%] | Borneol<br>[%] | Lavan-<br>dulol<br>[%] | Terpinen<br>-4-ol<br>[%] | Linalyl-<br>acetat<br>[%] |
|------------|-----------------------|----------------|-------------------|-----------------|---------------------|----------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Lavandin 1 | n.n.                  | 0,6            | 2,3               | 40,8            | 2,8                 | 1,1            | 0,1                    | n.n.                     | 48,0                      |
| Lavandin 2 | 0,3                   | 1,2            | 12,0              | 43,0            | 7,1                 | 1,4            | 0,2                    | 0,5                      | 26,3                      |
| Lavandin 3 | n.n.                  | 3,2            | 14,2              | 36,5            | 2,9                 | 0,8            | n.n.                   | 0,2                      | 36,2                      |
| Lavandin 4 | n.n.                  | 0,4            | 1,9               | 39,8            | 2,9                 | 1,0            | n.n.                   | 0,1                      | 51,2                      |
| Lavandin 5 | 0,2                   | 0,7            | 8,0               | 34,1            | 9,6                 | 2,5            | 0,3                    | 0,9                      | 31,2                      |
| Lavandin 6 | n.n.                  | 0,9            | 2,8               | 36,6            | 4,8                 | 2,3            | 0,3                    | 0,1                      | 42,8                      |
| Lavandin 7 | n.n.                  | 0,7            | 4,9               | 35,8            | 7,3                 | 2,4            | 0,3                    | 3,8                      | 37,1                      |
| Lavandin 8 | n.n.                  | 1,3            | 6,6               | 45,7            | 6,5                 | 4,4            | n.n.                   | 1,0                      | 27,7                      |
| Lavandin 9 | n.n.                  | 0,6            | 5,8               | 34,3            | 7,8                 | 1,8            | 0,2                    | 2,8                      | 37,6                      |
| Lavandin10 | n.n.                  | n.n.           | 11,5              | 47,5            | 8,5                 | 1,0            | n.n.                   | n.n.                     | 27,8                      |

**Tab. 51.** Flächenprozent der identifizierten Komponenten der kommerziellen Spiköle

| Probe  | Limonen<br>[%] | 1,8-Cineol<br>[%] | Linalool<br>[%] | Campher<br>[%] | Borneol<br>[%] | Terpinen-4-ol<br>[%] | Linalylacetat<br>[%] |
|--------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------------|----------------------|
| Spik 1 | n.n.           | 28,4              | 49,0            | 15,3           | 0,3            | 0,4                  | 0,2                  |
| Spik 2 | 3,6            | 27,3              | 53,7            | 8,3            | 0,1            | 0,1                  | 0,1                  |
| Spik 3 | n.n.           | 46,3              | 33,4            | 6,7            | 1,1            | n.n.                 | 0,6                  |
| Spik 4 | n.n.           | 31,8              | 49,6            | 11,0           | 1,6            | 0,1                  | n.n.                 |
| Spik 5 | n.n.           | 30,2              | 39,0            | 20,7           | 1,2            | 0,3                  | 0,2                  |

### 5.2.4 enantio-MDGC-MS Analyse

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Linalool und Linalylacetat erfolgte mittels enantioselektiver multidimensionaler Gaschromatographie-Massenspektrometrie (enantio-MDGC-MS).

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Gaschromatograph:</b>         | Siemens SiChromat 2-0 Doppelofengaschromatograph, ausgestattet mit einem „Live T“-Säulenschaltungssystem   |
| Injektor:                        | Split/Splitless, 240°C   |
| Split:                           | 30 mL/min  |
| Vorsäule:                        | SE 52, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,25 \mu\text{m}$   |
| Trärgas:                         | Wasserstoff 2,4 bar  |
| Temperaturprogramm:              | 50°C / 20 min // 2°C/min // 200°C / 20 min   |
| Detektor:                        | FID, 250°C   |
| Hauptsäule:                      | Heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O- <i>tert</i> -butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin in BGB 1701, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ (BGB-Analytik, Schlossböckelheim) |
| Trärgas:                         | Wasserstoff 1,5 bar  |
| Temperaturprogramm:              | 50°C / 20 min // 0,5°C/min // 75°C / 10 min // 0,5°C/min // 200°C  |
| <b>Massenspektrometer:</b>       | Finnigan MAT ITD 800   |
| Interface-Temperatur:            | 250°C  |
| Ionenquellen-Temperatur:         | 220°C  |
| Ionisationsenergie:              | 70 eV  |
| Datenaufnahme<br>und Auswertung: | ITD Software, Version 4.10   |

**Tab. 52.** Retentions- und Cut-Zeiten [min] (Vorsäule)

| Substanz      | Cut-Zeit<br>[min] |
|---------------|-------------------|
| Linalool      | 28,6 – 29,0       |
| Linalylacetat | 43,3 – 43,4       |

**Tab. 53.** Retentionszeiten [min] und Elutionsreihenfolge (Hauptsäule)

| Substanz      | Retentionszeit<br>[min] | Elutionsreihenfolge |
|---------------|-------------------------|---------------------|
| Linalylacetat | 76,5 / 77,1             | (R) vor (S)         |
| Linalool      | 78,8 / 82,3             | (R) vor (S)         |

**Messdaten**

Die Ergebnisse der enantioselektiven Analyse sind in **Tab. 54.** bis **Tab. 58.** aufgeführt.

**Tab. 54.** Enantiomerenverhältnisse [%] der authentischen Lavendelöle

| Probe | Linalylacetat |            | Linalool   |            |
|-------|---------------|------------|------------|------------|
|       | (R)<br>[%]    | (S)<br>[%] | (R)<br>[%] | (S)<br>[%] |
| LA1   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA2   | > 99          | < 1        | 98,2       | 1,8        |
| LA3   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA4   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA5   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA6   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA7   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA8   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA9   | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA10  | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| LA11  | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |

**Tab. 55.** Enantiomerenverhältnisse [%] der authentischen Spiköle

| Probe   | Linalylacetat |            | Linalool   |            |
|---------|---------------|------------|------------|------------|
|         | (R)<br>[%]    | (S)<br>[%] | (R)<br>[%] | (S)<br>[%] |
| Spik A1 | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |
| Spik A2 | > 99          | < 1        | > 99       | < 1        |

**Tab. 56.** Enantiomerenverhältnisse [%] der kommerziell erhältlichen Lavendelöle

| Probe | Linalylacetat |      | Linalool |      |
|-------|---------------|------|----------|------|
|       | (R)           | (S)  | (R)      | (S)  |
|       | [%]           | [%]  | [%]      | [%]  |
| LK1   | 52,9          | 47,1 | 70,7     | 29,3 |
| LK2   | > 99          | < 1  | 98,0     | 2,0  |
| LK3   | 55,7          | 44,3 | 55,5     | 44,5 |
| LK4   | 51,8          | 48,2 | 62,0     | 38,0 |
| LK5   | 98,3          | 1,7  | 97,1     | 2,9  |
| LK6   | > 99          | < 1  | 98,2     | 1,8  |
| LK7   | 52,0          | 48,0 | 69,7     | 30,3 |
| LK8   | 80,7          | 19,3 | > 99     | < 1  |
| LK9   | 53,3          | 46,7 | 60,8     | 39,2 |
| LK10  | 91,4          | 8,6  | 87,5     | 12,5 |
| LK11  | 86,9          | 13,1 | 91,4     | 8,6  |
| LK12  | > 99          | < 1  | > 99     | < 1  |
| LK13  | > 99          | < 1  | 97,9     | 2,1  |
| LK14  | > 99          | < 1  | 98,2     | 1,8  |
| LK15  | > 99          | < 1  | > 99     | < 1  |
| LK16  | > 99          | < 1  | > 99     | < 1  |
| LK17  | > 99          | < 1  | 97,7     | 2,3  |
| LK18  | > 99          | < 1  | 97,5     | 2,5  |
| LK19  | > 99          | < 1  | 98,3     | 1,7  |
| LK20  | > 99          | < 1  | 97,6     | 2,4  |
| LK21  | > 99          | < 1  | 98,6     | 1,4  |
| LK22  | > 99          | < 1  | > 99     | < 1  |
| LK23  | > 99          | < 1  | > 99     | < 1  |
| LK24  | > 99          | < 1  | 94,8     | 5,2  |
| LK25  | > 99          | < 1  | 93,5     | 6,5  |
| LK26  | > 99          | < 1  | 97,5     | 2,5  |

**Tab. 57.** Enantiomerenverhältnisse [%] der kommerziell erhältlichen Lavandinöle

| Probe       | Linalylacetat |     | Linalool |     |
|-------------|---------------|-----|----------|-----|
|             | (R)           | (S) | (R)      | (S) |
|             | [%]           | [%] | [%]      | [%] |
| Lavandin 1  | > 99          | < 1 | 96,8     | 3,2 |
| Lavandin 2  | > 99          | < 1 | 98,9     | 1,1 |
| Lavandin 3  | > 99          | < 1 | 97,6     | 2,4 |
| Lavandin 4  | > 99          | < 1 | 98,9     | 1,1 |
| Lavandin 5  | > 99          | < 1 | > 99     | < 1 |
| Lavandin 6  | > 99          | < 1 | 93,3     | 6,7 |
| Lavandin 7  | > 99          | < 1 | 97,2     | 2,8 |
| Lavandin 8  | > 99          | < 1 | > 99     | < 1 |
| Lavandin 9  | > 99          | < 1 | 95,8     | 4,2 |
| Lavandin 10 | > 99          | < 1 | 97,1     | 1,9 |

**Tab. 58.** Enantiomerenverhältnisse [%] der kommerziell erhältlichen Spiköle

| Probe  | Linalylacetat |      | Linalool |     |
|--------|---------------|------|----------|-----|
|        | (R)           | (S)  | (R)      | (S) |
|        | [%]           | [%]  | [%]      | [%] |
| Spik 1 | > 99          | < 1  | > 99     | < 1 |
| Spik 2 | > 99          | < 1  | > 99     | < 1 |
| Spik 3 | > 99          | < 1  | > 99     | < 1 |
| Spik 4 | n.b.          | n.b. | > 99     | < 1 |
| Spik 5 | > 99          | < 1  | > 99     | < 1 |

### 5.2.5 GC-C-IRMS Analyse

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>Gaschromatograph:</b>           | Siemens SiChromat 2-8 Doppelofengaschromatograph   |
| Autosampler:                       | A200S (CTC Analytics, Schweiz)   |
| Injektor:                          | Split/Splitless, 240°C   |
| Split:                             | 20 mL/min  |
| Trärgas:                           | Helium, Fluss 1,8 mL/min bei 100°C   |
| Trennsäule:                        | Rtx 5, 60 m x 0.25 mm i.d., $d_f = 0.5 \mu\text{m}$ , (Restek, Bad Homburg)  |
| Temperaturprogramm:                | 60°C / 5 min // 3°C/min // 240°C / 10 min  |
| <b>Interface:</b>                  | GC-Combustion-Interface II (ThermoFinnigan MAT, Bremen)  |
| Referenzgas:                       | CO <sub>2</sub> (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,8 bar   |
| Helium:                            | 1,2 bar  |
| Sauerstoff                         | 1,6 bar  |
| Oxidationsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Drähte (Kupfer, Nickel, Platin) mit einer Länge von 240 mm |
| Temperatur des Oxidationsreaktors: | 960°C  |
| Reduktionsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Kupferdrähte mit einer Länge von 240 mm                    |
| Temperatur des Reduktionsreaktors: | 600°C  |
| Wasserseparator:                   | NAFION <sup>TM</sup> (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.  |
| <b>Isotopen-</b>                   |  |
| <b>massenspektrometer:</b>         | Delta S (ThermoFinnigan MAT, Bremen)   |
| Ionenquelle:                       | beheizt  |
| Ionisierungsenergie                | 70 eV  |
| Datenaufnahme und Auswertung:      | Isodat, Version 5.4  |

**Kalibrierung des Referenzgases:**

Zur Kalibrierung des Referenzgases wurden Standardsubstanzen herangezogen, deren  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte mittels eines Elemental Analyzers bestimmt wurden. Die Messungen wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Gehre (Umweltforschungszentrum, Leipzig-Halle) durchgeführt.

**Tab. 59.** Standardsubstanzen zur Kalibrierung des GC-IRMS-Systems

| Substanz             | Lieferant       | Reinheit     | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ Werte |
|----------------------|-----------------|--------------|--|
| 5-Nonanon            | Fluka, Buchs    | $\geq 97 \%$ | -26,11                                     |
| Menthol              | EGA-Chemie      | $> 99 \%$    | -26,14                                     |
| Linalool             | Fluka, Buchs    | $\geq 97 \%$ | -26,39                                     |
| Linalylacetat        | Aldrich, Seelze | $> 97 \%$    | -36,01                                     |
| $\gamma$ -Decalacton | Aldrich, Seelze | $> 98 \%$    | -28,54                                     |

Der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Wert des Referenzgases ergibt sich als Mittelwert der über die oben genannten Standardsubstanzen ermittelten Werte. Dazu wurde eine Mischung der Standardsubstanzen in unterschiedlichen Konzentrationen jeweils zehnmal analysiert. Zur Überprüfung wird die Mischung der Standardsubstanzen zwischen den Messungen der einzelnen Proben wiederholt. Jede Probe wurde mindestens fünfmal analysiert. Die Standardabweichungen liegen bei allen Messungen im Bereich der verfahrensbedingten Messungenauigkeit (Standardabweichung  $s \leq 0,3 \text{ ‰}$ ).

**Tab. 60.** Retentionszeiten [min] von Linalool und Linalylacetat

| Substanz      | Retentionszeit<br>[min] |
|---------------|-------------------------|
| Linalool      | 21,9                    |
| Linalylacetat | 27,2                    |

### Messdaten

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte sind in **Tab. 61.** bis **Tab. 67.** aufgeführt.

**Tab. 61.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Linalool-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
|-------------|---|
| Linalool S1 | -24,9                                       |
| Linalool S2 | -28,9                                       |
| Linalool S3 | -28,2                                       |
| Linalool S4 | -26,4                                       |
| Linalool S5 | -27,4                                       |
| Linalool S6 | -28,2                                       |
| Linalool S7 | -27,8                                       |
| Linalool N1 | -28,5                                       |
| Linalool N2 | -26,7                                       |
| Linalool N3 | -25,5                                       |

**Tab. 62.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Linalylacetat-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe            | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
|------------------|---|
| Linalylacetat S1 | -37,0                                       |
| Linalylacetat S2 | -36,0                                       |
| Linalylacetat S3 | -35,8                                       |
| Linalylacetat S4 | -36,7                                       |
| Linalylacetat S5 | -36,9                                       |
| Linalylacetat N1 | -30,2                                       |
| Linalylacetat N2 | -28,3                                       |



**Tab. 63.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der authentischen Lavendelöle

| Probe | Linalool                                    | Linalylacetat                               |
|-------|---|---|
|       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| LA1   | -29,6                                       | -31,2                                       |
| LA2   | -28,0                                       | -29,9                                       |
| LA3   | -28,4                                       | -29,4                                       |
| LA4   | -30,3                                       | -28,9                                       |
| LA5   | -28,6                                       | -28,7                                       |
| LA6   | -29,1                                       | -29,2                                       |
| LA7   | -29,2                                       | -29,2                                       |
| LA8   | -27,8                                       | -27,3                                       |
| LA9   | -25,2                                       | -27,1                                       |
| LA10  | -27,2                                       | -27,2                                       |
| LA11  | -29,3                                       | -27,4                                       |

**Tab. 64.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der authentischen Spiköle

| Probe   | Linalool                                    | Linalylacetat                               |
|---------|---|---|
|         | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| Spik A1 | -25,8                                       | n.b.  |
| Spik A2 | -24,2                                       | n.b.  |

**Tab. 65.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Lavendelöle

| Probe | Linalool                                    | Linalylacetat                               |
|-------|---|---|
|       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| LK1   | -27,1                                       | -29,6                                       |
| LK2   | -26,6                                       | -26,7                                       |
| LK3   | -28,1                                       | -32,5                                       |
| LK4   | -28,3                                       | -29,8                                       |
| LK5   | -27,4                                       | -26,4                                       |
| LK6   | -26,8                                       | -26,4                                       |
| LK7   | -29,2                                       | -28,3                                       |
| LK8   | -26,3                                       | -27,1                                       |
| LK9   | -28,2                                       | -30,6                                       |
| LK10  | -26,9                                       | -24,9                                       |
| LK11  | -24,8                                       | -25,8                                       |
| LK12  | -26,4                                       | -24,6                                       |
| LK13  | -27,1                                       | -25,1                                       |
| LK14  | -26,9                                       | -26,1                                       |
| LK15  | -27,1                                       | -26,1                                       |
| LK16  | -27,4                                       | -27,1                                       |
| LK17  | -26,0                                       | -25,6                                       |
| LK18  | -25,3                                       | -23,8                                       |
| LK19  | -25,8                                       | -25,0                                       |
| LK20  | -26,0                                       | -25,0                                       |
| LK21  | -25,2                                       | -24,4                                       |
| LK22  | -27,3                                       | -27,1                                       |
| LK23  | -26,9                                       | -27,2                                       |
| LK24  | -26,3                                       | -26,9                                       |
| LK25  | -26,1                                       | -26,7                                       |
| LK26  | -25,6                                       | -27,7                                       |

**Tab. 66.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Lavandinöle

| Probe       | Linalool                                    | Linalylacetat                               |
|-------------|---|---|
|             | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| Lavandin 1  | -24,6                                       | -23,9                                       |
| Lavandin 2  | -27,0                                       | -26,1                                       |
| Lavandin 3  | -26,1                                       | -25,8                                       |
| Lavandin 4  | -24,1                                       | -23,5                                       |
| Lavandin 5  | -26,5                                       | -26,4                                       |
| Lavandin 6  | -25,2                                       | -25,9                                       |
| Lavandin 7  | -26,0                                       | -27,8                                       |
| Lavandin 8  | -25,9                                       | -27,4                                       |
| Lavandin 9  | -26,2                                       | -27,0                                       |
| Lavandin 10 | -24,6                                       | -23,9                                       |

**Tab. 67.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Spiköle

| Probe  | Linalool                                    | Linalylacetat                               |
|--------|---|---|
|        | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| Spik 1 | -27,4                                       | n.b.  |
| Spik 2 | -27,1                                       | n.b.  |
| Spik 3 | -26,6                                       | n.b.  |
| Spik 4 | -29,3                                       | n.b.  |
| Spik 5 | -24,9                                       | n.b.  |

### 5.2.6 GC-P-IRMS Analyse

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>Gaschromatograph:</b>         | HP 6890   |
| Autosampler:                     | A200S (CTC Analytics, Schweiz)  |
| Injektor:                        | Split/Splitless, 240°C, Splitless   |
| Trärgas:                         | Helium, Fluss 0,8 mL/min  |
| Trennsäule:                      | VB 5, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,5 \mu\text{m}$ (ValcoBond, Gig Harbor, USA) |
| Temperaturprogramm:              | 40°C / 30 min // 2°C/min // 120°C / 0 min // 5°C/min // 240°C                   |
| <b>Interface:</b>                | GC-Combustion-Interface III (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                        |
| Referenzgas:                     | Wasserstoff, 1,0 bar  |
| Helium:                          | 0,8 bar   |
| Pyrolysereaktor:                 | Keramikrohr ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), 320 mm x 0,5 mm i.d.                   |
| Temperatur des Pyrolysereaktors: | 1440°C  |
| Wasserseparator:                 | NAFION <sup>TM</sup> (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.                 |
| <b>Isotopen-</b>                 |   |
| <b>massenspektrometer:</b>       | Delta <sup>plus</sup> XL (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                           |
| Ionenquelle:                     | beheizt   |
| Ionisierungsenergie              | 70 eV   |
| Datenaufnahme und Auswertung:    | Isodat, Version 5.4   |

#### Bedingungen der Messungen mittels GC-P-IRMS

Die Kalibrierung des Referenzgases erfolgte wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben. Der Pyrolysereaktor wurde in regelmäßigen Abständen wie in Kapitel 5.1.3 mit Methan konditioniert. Die Richtigkeit der Messung wurde zwischen den Messungen der Proben durch Messung einer Tertiärstandardmischung mit Substanzen (5-Nonanon, Menthol, Linalool, Linalylacetat,  $\gamma$ -Decalacton), deren Isotopenverhältnis über den

TC/EA bestimmt wurde, überprüft. Auch die Notwendigkeit einer erneuten Konditionierung des Reaktors lässt sich durch die Messung dieser Tertiärstandardmischung überprüfen. Jede Substanz bzw. Probe wird mindestens fünfmal vermessen, wobei die Standardabweichung der Messungen zwischen 1 - 3 ‰ liegt.

**Tab. 68.** Retentionszeiten [min] von Linalool und Linalylacetat

| Substanz      | Retentionszeit<br>[min] |
|---------------|-------------------------|
| Linalool      | 61,5                    |
| Linalylacetat | 73,3                    |

### Messdaten

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  Werte sind in **Tab. 69.** bis **Tab. 75.** aufgeführt.

**Tab. 69.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Linalool-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe       | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|-------------|---|
| Linalool S1 | -159                                      |
| Linalool S2 | -202                                      |
| Linalool S3 | -185                                      |
| Linalool S4 | -190                                      |
| Linalool S5 | -185                                      |
| Linalool S6 | -209                                      |
| Linalool S7 | -209                                      |
| Linalool N1 | -265                                      |
| Linalool N2 | -307                                      |
| Linalool N3 | -278                                      |

**Tab. 70.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Linalylacetat-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe            | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|------------------|---|
| Linalylacetat S1 | -172                                      |
| Linalylacetat S2 | -181                                      |
| Linalylacetat S3 | -173                                      |
| Linalylacetat S4 | -197                                      |
| Linalylacetat S5 | -184                                      |
| Linalylacetat N1 | -276                                      |
| Linalylacetat N2 | -280                                      |

**Tab. 71.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der authentischen Lavendelöle

| Probe | Dampfdestillation           |                             | Diethyletherextraktion      |                             |
|-------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|       | Linalool                    | Linalylacetat               | Linalool                    | Linalylacetat               |
|       | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| LA1   | -274                        | -269                        | -270                        | -268                        |
| LA2   | -259                        | -251                        | -257                        | -257                        |
| LA3   | -241                        | -246                        | -251                        | -253                        |
| LA4   | -253                        | -256                        | -252                        | -250                        |
| LA5   | -263                        | -251                        | -266                        | -247                        |
| LA6   | -257                        | -254                        | -262                        | -260                        |
| LA7   | -264                        | -261                        | -264                        | -260                        |
| LA8   | -261                        | -270                        | -262                        | -276                        |
| LA9   | -251                        | -238                        | -253                        | -241                        |
| LA10  | -254                        | -263                        | -250                        | -261                        |
| LA11  | -262                        | -272                        | -264                        | -271                        |

**Tab. 72.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der authentischen Spiköle

| Probe   | Dampfdestillation           |                             | Diethyletherextraktion      |                             |
|---------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|         | Linalool                    | Linalylacetat               | Linalool                    | Linalylacetat               |
|         | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| Spik A1 | -250                        | n.b.                        | -252                        | n.b.                        |
| Spik A2 | -255                        | n.b.                        | -265                        | n.b.                        |

**Tab. 73.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Lavendelöle

| Probe | Linalool                    | Linalylacetat               |
|-------|-----------------------------|-----------------------------|
|       | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| LK1   | -207                        | -210                        |
| LK2   | -239                        | -231                        |
| LK3   | -212                        | -187                        |
| LK4   | -190                        | -216                        |
| LK5   | -250                        | -244                        |
| LK6   | -265                        | -245                        |
| LK7   | -190                        | -210                        |
| LK8   | -270                        | -239                        |
| LK9   | -204                        | -204                        |
| LK10  | -258                        | -239                        |
| LK11  | -274                        | -274                        |
| LK12  | -266                        | -270                        |
| LK13  | -256                        | -235                        |
| LK14  | -265                        | -231                        |
| LK15  | -268                        | -237                        |
| LK16  | -294                        | -253                        |
| LK17  | -241                        | -232                        |
| LK18  | -271                        | -247                        |
| LK19  | -271                        | -242                        |
| LK20  | -291                        | -249                        |
| LK21  | -253                        | -244                        |
| LK22  | -232                        | -238                        |
| LK23  | -245                        | -248                        |
| LK24  | -238                        | -245                        |
| LK25  | -265                        | -254                        |
| LK26  | -284                        | -274                        |

**Tab. 74.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Lavandinöle

| Probe       | Linalool                    | Linalylacetat               |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|
|             | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| Lavandin 1  | -244                        | -231                        |
| Lavandin 2  | -256                        | -248                        |
| Lavandin 3  | -255                        | -237                        |
| Lavandin 4  | -253                        | -243                        |
| Lavandin 5  | -238                        | -234                        |
| Lavandin 6  | -231                        | -229                        |
| Lavandin 7  | -241                        | -236                        |
| Lavandin 8  | -236                        | -231                        |
| Lavandin 9  | -246                        | -239                        |
| Lavandin 10 | -270                        | -254                        |

**Tab. 75.**  $\delta^2H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Spiköle

| Probe  | Linalool                    | Linalylacetat               |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|
|        | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| Spik 1 | -267                        | n.b.                        |
| Spik 2 | -277                        | n.b.                        |
| Spik 3 | -208                        | n.b.                        |
| Spik 4 | -242                        | n.b.                        |
| Spik 5 | -253                        | n.b.                        |

## 5.3 Authentizität von Anis- und Fenchelölen

### 5.3.1 Materialien

Bei den Probenmaterialien handelt es sich einerseits um aus Anis- bzw. Fenchelsamen isolierte ätherische Öle und andererseits um kommerziell erhältliche Anis- und Fenchelöle.

Samen definierter botanischer Herkunft (*Foeniculum vulgare* und *Pimpinella anisum*) wurden von verschiedenen Anbietern bezogen (vgl. **Tab. 76.**, **Tab. 77.**).

**Tab. 76.** Fenchelsamen zur Gewinnung ätherischer Öle

| Probe | Bezeichnung          | Herkunft    | Hersteller/Vertreiber            |
|-------|----------------------|-------------|----------------------------------|
| FA1   | Fenchel, süß         | unbekannt   | Bauer GmbH, Vesternbergsgreuth   |
| FA2   | Fenchel Magnafena    | Deutschland | N. L. Chrestensen, Erfurt        |
| FA3   | Fenchel              | Ungarn      | Conrad Appel, Darmstadt          |
| FA4   | Fenchel Typ Offstein | Deutschland | Bornträger & Schlemmer, Offstein |
| FA5   | Fenchel Befena       | Deutschland | N. L. Chrestensen, Erfurt        |
| FA6   | Fenchel              | unbekannt   | Sperling & Co, Lüneburg          |

**Tab. 77.** Anissamen zur Gewinnung ätherischer Öle

| Probe | Bezeichnung | Herkunft   | Hersteller/Vertreiber            |
|-------|-------------|------------|----------------------------------|
| AA1   | Anis        | unbekannt  | Sperling & Co, Lüneburg          |
| AA2   | Anis        | unbekannt  | Bauer GmbH, Vesternbergsgreuth   |
| AA3   | Anis        | Frankreich | N. L. Chrestensen, Erfurt        |
| AA4   | Anis        | unbekannt  | Bornträger & Schlemmer, Offstein |

Die kommerziell erhältlichen Öle wurden aus dem Handel erworben oder direkt von den Herstellern zur Verfügung gestellt (vgl. **Tab. 78.**, **Tab. 79.**).

**Tab. 78.** Kommerziell erhältliche Fenchelöle

| Probe | Bezeichnung               | Herkunft   | Hersteller/Vertreiber   |
|-------|---------------------------|------------|-------------------------|
| FK1   | Fenchelöl süß             | unbekannt  | Aldrich, Seelze         |
| FK2   | natürliches Fenchelöl süß | Frankreich | Morgentau, St. Johann   |
| FK3   | Fenchelöl süß, naturrein  | Spanien    | Apotheker Dr. Motschall |
| FK4   | Fenchelöl süß             | Ungarn     | Kaders GmbH, Hamburg    |

**Tab. 79.** Kommerziell erhältliche Anisöle

| Probe | Bezeichnung        | Herkunft  | Hersteller/Vertreiber   |
|-------|--------------------|-----------|-------------------------|
| AK1   | Anisöl             | unbekannt | Aldrich, Seelze         |
| AK2   | natürliches Anisöl | Spanien   | Morgentau, St. Johann   |
| AK3   | Anisöl, naturrein  | Spanien   | Apotheker Dr. Motschall |



Weiterhin wurden kommerziell erhältliche *trans*-Anethol-Standards untersucht (vgl. **Tab. 80.**).

**Tab. 80.** Kommerziell erhältliche *trans*-Anethol-Standards, von den Herstellern als synthetisch (S) bzw. natürlich (N) deklariert

| Probe                    | Hersteller/Vertreiber |
|--------------------------|-----------------------|
| <i>trans</i> -Anethol S1 | Fluka, Buchs          |
| <i>trans</i> -Anethol S2 | Merck, Darmstadt      |
| <i>trans</i> -Anethol S3 | Acros Organics, Geel  |
| <i>trans</i> -Anethol S4 | Kaders GmbH, Hamburg  |
| <i>trans</i> -Anethol S5 | Aldrich, Seelze       |
| <i>trans</i> -Anethol N1 | Kaders GmbH, Hamburg  |
| <i>trans</i> -Anethol N2 | Aldrich, Seelze       |

### 5.3.2 Probenaufarbeitung

#### Wasserdampfdestillation

Zur Gewinnung des ätherischen Öls aus den Fenchel- bzw. Anissamen wurde die Destillationsapparatur nach DAB 1997 verwendet<sup>55</sup>. Dazu werden ca. 20 g der jeweiligen Samen zunächst mit einer Mühle zermahlen. Das erhaltene Pulver wird in 250 mL Wasser suspendiert und unter Verwendung eines speziellen Destillationsaufsatzes (vgl. **Abb. 45.**) 2 Stunden wasserdampfdestilliert. Abweichend von der angegebenen Literatur wurde das ätherische Öl in Diethylether aufgenommen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird im Stickstoffstrom entfernt.

Die gewonnenen ätherischen Öle wurden in entsprechenden Verdünnungen für die jeweiligen Analysen eingesetzt. Um Einflüsse der Probenaufarbeitung auf die  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenverhältnisse von *trans*-Anethol durch mögliche Austauschreaktionen auszuschließen, wurde ein *trans*-Anethol-Standard unter den gleichen Bedingungen wasserdampfdestilliert wie die Proben.

Die kommerziell erhältlichen ätherischen Öle und die Standardsubstanzen wurden direkt nach dem Verdünnen eingesetzt.



### Messdaten

Die Ergebnisse der Quantifizierung sind in **Tab. 82.** bis **Tab. 85.** zusammenfasst. Die Quantifizierung wurde über die Berechnung der relativen Flächenprozent vorgenommen.

**Tab. 82.** Zusammensetzung der authentischen Fenchelöle in Flächenprozent [%]

| Probe | $\alpha$ -Pinen [%] | $\beta$ -Pinen [%] | $\alpha$ -Phellandren [%] | Limonen [%] | Fenchon [%] | Linalool [%] | Estragol [%] | <i>trans</i> -Anethol [%] |
|-------|---------------------|--------------------|---------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|---------------------------|
| FA1   | 0,4                 | 0,2                | 0,1                       | 2,1         | 0,5         | n.n.         | 2,9          | 92,9                      |
| FA2   | 5,8                 | 0,5                | 0,3                       | 2,7         | 27,1        | n.n.         | 1,1          | 60,3                      |
| FA3   | 3,1                 | 0,2                | 0,3                       | 2,2         | 16,8        | n.n.         | 2,3          | 73,3                      |
| FA4   | 3,4                 | 0,2                | 0,3                       | 2,1         | 17,6        | n.n.         | 1,7          | 72,6                      |
| FA5   | 5,1                 | 0,3                | 0,4                       | 2,4         | 26,1        | n.n.         | 1,1          | 62,5                      |
| FA6   | 0,8                 | 0,1                | 0,1                       | 6,8         | 6,2         | n.n.         | 1,3          | 84,1                      |

**Tab. 83.** Zusammensetzung der kommerziellen Fenchelöle in Flächenprozent [%]

| Probe | $\alpha$ -Pinen [%] | $\beta$ -Pinen [%] | $\alpha$ -Phellandren [%] | Limonen [%] | Fenchon [%] | Linalool [%] | Estragol [%] | <i>trans</i> -Anethol [%] |
|-------|---------------------|--------------------|---------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|---------------------------|
| FK1   | 6,2                 | 0,5                | 2,2                       | 1,8         | 3,3         | 0,1          | 2,2          | 82,2                      |
| FK2   | 4,9                 | 0,5                | 0,6                       | 1,7         | 7,0         | 0,4          | 2,9          | 79,5                      |
| FK3   | 1,4                 | 0,2                | 2,2                       | 1,7         | 10,2        | n.n.         | 2,1          | 80,9                      |
| FK4   | n.n.                | n.n.               | n.n.                      | n.n.        | 0,5         | n.n.         | n.n.         | 97,6                      |

**Tab. 84.** Zusammensetzung der authentischen Anisöle in Flächenprozent [%]

| Probe | Estragol [%] | <i>trans</i> -Anethol [%] |
|-------|--------------|---------------------------|
| AA1   | n.n          | 97,7                      |
| AA2   | 0,1          | 96,5                      |
| AA3   | 0,6          | 95,2                      |
| AA4   | 1,0          | 97,1                      |

**Tab. 85.** Zusammensetzung der kommerziellen Anisöle in Flächenprozent [%]

| Probe | $\alpha$ -Pinen [%] | $\beta$ -Pinen [%] | $\alpha$ -Phellandren [%] | Limonen [%] | Linalool [%] | Estragol [%] | <i>trans</i> -Anethol [%] |
|-------|---------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|--------------|---------------------------|
| AK1   | 0,2                 | n.n.               | 0,1                       | 1,5         | 1,1          | n.n          | 96,4                      |
| AK2   | 0,2                 | 0,1                | 0,2                       | 0,3         | 0,6          | 3,3          | 94,8                      |
| AK3   | 0,4                 | 0,2                | n.n.                      | 1,0         | 0,6          | 1,5          | 94,0                      |

### 5.3.4 enantio-MDGC-MS Analyse

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse der identifizierten, chiralen Verbindungen der Fenchelöle erfolgte mittels enantioselektiver multidimensionaler Gaschromatographie-Massenspektrometrie (enantio-MDGC-MS).

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>Gaschromatograph:</b>         | Siemens SiChromat 2-8 Doppelofengaschromatograph, ausgestattet mit einem „Live T“-Säulenschaltungssystem                                      |
| Injektor:                        | Split/Splitless, 240°C  |
| Split:                           | 30 mL/min   |
| Vorsäule:                        | SE 52, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,25 \mu\text{m}$  |
| Trärgas:                         | Helium 2,0 bar  |
| Temperaturprogramm:              | 60°C / 15 min // 2°C/min // 200°C / 20 min  |
| Detektor:                        | FID, 250°C  |
| Hauptsäule:                      | Heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O- <i>tert</i> -butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin in SE 52, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,25 \mu\text{m}$ |
| Trärgas:                         | Helium 1,4 bar  |
| Temperaturprogramm:              | 50°C / 20 min // 1,0°C/min // 200°C / 10 min  |
| <b>Massenspektrometer:</b>       | Finnigan MAT GCQ  |
| Interface-Temperatur:            | 250°C   |
| Ionenquellen-Temperatur:         | 170°C   |
| Ionisationsenergie:              | 70 eV   |
| Datenaufnahme<br>und Auswertung: | Xcalibur Software, Revision 1.0   |

**Tab. 86.** Retentions- und Cut-Zeiten [min] (Vorsäule)

| Substanz              | Cut-Zeit<br>[min] |
|-----------------------|-------------------|
| $\alpha$ -Pinen       | 19,6 – 19,8       |
| $\beta$ -Pinen        | 24,1 – 24,3       |
| $\alpha$ -Phellandren | 25,2 – 25,4       |
| Limonen               | 29,3 – 29,5       |
| Fenchon               | 34,9 – 35,2       |

**Tab. 87.** Retentionszeiten [min] und Elutionsreihenfolge (Hauptsäule)

| Substanz              | Retentionszeit<br>[min] | Elutionsreihenfolge |
|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| $\alpha$ -Pinen       | 42,7/43,6               | (S) vor (R)         |
| $\beta$ -Pinen        | 48,1/49,2               | (R) vor (S)         |
| $\alpha$ -Phellandren | 50,3/51,1               | (R) vor (S)         |
| Limonen               | 53,8/55,4               | (S) vor (R)         |
| Fenchon               | 60,7/61,0               | (R) vor (S)         |

**Messdaten**

Die Ergebnisse der enantioselektiven Analyse sind in **Tab. 88.** und **Tab. 89** aufgeführt.

**Tab. 88.** Enantiomerenverhältnisse [%] der authentischen Fenchelöle

| Probe | $\alpha$ -Pinen |      | $\beta$ -Pinen |     | $\alpha$ -Phellandren |      | Limonen |      | Fenchon |      |
|-------|-----------------|------|----------------|-----|-----------------------|------|---------|------|---------|------|
|       | (S)             | (R)  | (R)            | (S) | (R)                   | (S)  | (S)     | (R)  | (R)     | (S)  |
|       | [%]             | [%]  | [%]            | [%] | [%]                   | [%]  | [%]     | [%]  | [%]     | [%]  |
| FA1   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | < 1     | > 99 | < 1     | > 99 |
| FA2   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | 41,0    | 59,0 | < 1     | > 99 |
| FA3   | 1,2             | 98,8 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | 37,8    | 62,2 | < 1     | > 99 |
| FA4   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | 40,2    | 59,8 | < 1     | > 99 |
| FA5   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | 41,0    | 59,0 | < 1     | > 99 |
| FA6   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1 | < 1                   | > 99 | 3,6     | 96,4 | < 1     | > 99 |

**Tab. 89.** Enantiomerenverhältnisse [%] der kommerziellen Fenchelöle

| Probe | $\alpha$ -Pinen |      | $\beta$ -Pinen |      | $\alpha$ -Phellandren |      | Limonen |      | Fenchon |      |
|-------|-----------------|------|----------------|------|-----------------------|------|---------|------|---------|------|
|       | (S)             | (R)  | (R)            | (S)  | (R)                   | (S)  | (S)     | (R)  | (R)     | (S)  |
|       | [%]             | [%]  | [%]            | [%]  | [%]                   | [%]  | [%]     | [%]  | [%]     | [%]  |
| FK1   | 1,2             | 98,8 | > 99           | < 1  | < 1                   | > 99 | 40,6    | 59,4 | < 1     | > 99 |
| FK2   | 17,3            | 82,7 | 54,8           | 45,1 | < 1                   | > 99 | 53,3    | 46,7 | < 1     | > 99 |
| FK3   | < 1             | > 99 | > 99           | < 1  | < 1                   | > 99 | 15,1    | 84,9 | < 1     | > 99 |
| FK4   | n.n.            | n.n. | n.n.           | n.n. | n.n.                  | n.n. | n.n.    | n.n. | < 1     | > 99 |

**5.3.5 GC-C-IRMS Analyse**

|                     |   |
|---------------------|---|
| Gaschromatograph:   | Siemens SiChromat 2-8 Doppelofengaschromatograph                            |
| Autosampler:        | A200S (CTC Analytics, Schweiz)  |
| Injektor:           | Split/Splitless, 240°C  |
| Split:              | 20 mL/min   |
| Trärgas:            | Helium, Fluss 1,8 mL/min bei 100°C  |
| Trennsäule:         | Rtx 5, 60 m x 0.25 mm i.d., $d_f = 0.5 \mu\text{m}$ , (Restek, Bad Homburg) |
| Temperaturprogramm: | 80°C / 5 min // 5°C/min // 240°C / 10 min                                   |

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>Interface:</b>                  | GC-Combustion-Interface II (ThermoFinnigan MAT, Bremen)  |
| Referenzgas:                       | CO <sub>2</sub> (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,4 bar   |
| Helium:                            | 1,8 bar  |
| Sauerstoff                         | 1,6 bar  |
| Oxidationsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Drähte (Kupfer, Nickel, Platin) mit einer Länge von 240 mm |
| Temperatur des Oxidationsreaktors: | 960°C  |
| Reduktionsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Kupferdrähte mit einer Länge von 240 mm                    |
| Temperatur des Reduktionsreaktors: | 600°C  |
| Wasserseparator:                   | NAFION™ (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.   |

**Isotopen-**

**massenspektrometer:** Delta S (ThermoFinnigan MAT, Bremen)

Ionenquelle: beheizt

Ionisierungsenergie 70 eV

Datenaufnahme

und Auswertung: Isodat, Version 5.4

**Kalibrierung des Referenzgases:**

Die Kalibrierung des Referenzgases erfolgte entsprechend Kapitel 5.2.5, wobei die in **Tab. 90.** aufgeführten Standardsubstanzen verwendet wurden.

**Tab. 90.** Standardsubstanzen zur Kalibrierung des GC-IRMS-Systems

| Substanz             | Lieferant       | Reinheit     | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ Werte |
|----------------------|-----------------|--------------|--|
| 5-Nonanon            | Fluka, Buchs    | $\geq 97 \%$ | -26,11                                     |
| Menthol              | EGA-Chemie      | $> 99 \%$    | -26,14                                     |
| trans-Anethol        | Fluka, Buchs    | $\geq 97 \%$ | -24,8                                      |
| $\gamma$ -Decalacton | Aldrich, Seelze | $> 98 \%$    | -28,54                                     |

**Tab. 91.** Retentionszeiten [min] der trans-Anethol und Fenchon

| Substanz      | Retentionszeit [min] |
|---------------|----------------------|
| trans-Anethol | 18,2                 |
| Fenchon       | 24,7                 |

**Messdaten**

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte sind in **Tab. 92.** bis **Tab. 96.** aufgeführt.

**Tab. 92.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen *trans*-Anethol-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe                    | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
|--------------------------|---|
| <i>trans</i> -Anethol S1 | -24,8                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S2 | -32,1                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S3 | -29,8                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S4 | -29,6                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S5 | -30,7                                       |
| <i>trans</i> -Anethol N1 | -24,2                                       |
| <i>trans</i> -Anethol N2 | -29,6                                       |

**Tab. 93.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol aus authentischen Fenchelölen

| <i>trans</i> -Anethol |   |
|-----------------------|---|
| Probe                 | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| FA1                   | -28,4                                       |
| FA2                   | -27,3                                       |
| FA3                   | -26,6                                       |
| FA4                   | -26,9                                       |
| FA5                   | -27,6                                       |
| FA6                   | -28,3                                       |

**Tab. 94.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol aus authentischen Anisölen

| <i>trans</i> -Anethol |   |
|-----------------------|---|
| Probe                 | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| AA1                   | -26,0                                       |
| AA2                   | -26,3                                       |
| AA3                   | -25,7                                       |
| AA4                   | -25,3                                       |

**Tab. 95.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol aus kommerziellen Fenchelölen

| <i>trans</i> -Anethol |   |
|-----------------------|---|
| Probe                 | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| FK1                   | -28,5                                       |
| FK2                   | -24,5                                       |
| FK3                   | -28,5                                       |
| FK4                   | -26,5                                       |

**Tab. 96.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte [‰] von *trans*-Anethol aus kommerziellen Anisölen

| Probe | <i>trans</i> -Anethol                       |
|-------|---|
|       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| AK1   | -23,7                                       |
| AK2   | -25,5                                       |
| AK4   | -28,0                                       |

### 5.3.6 GC-P-IRMS Analyse

|  |   |
|--|---|
| <b>Gaschromatograph:</b>                 | HP 6890   |
| Autosampler:                             | A200S (CTC Analytics, Schweiz)  |
| Injektor:                                | Split/Splitless, 240°C, Splitless   |
| Trärgas:                                 | Helium, Fluss 0,8 mL/min  |
| Trennsäule:                              | VB 5, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,5 \mu\text{m}$ (ValcoBond, Gig Harbor, USA) |
| Temperaturprogramm:                      | 40°C / 15 min // 5°C/min // 240°C   |
| <b>Interface:</b>                        | GC-Combustion-Interface III (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                        |
| Referenzgas:                             | Wasserstoff (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,0 bar                              |
| Helium:                                  | 0,8 bar   |
| Pyrolysereaktor:                         | Keramikrohr ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), 320 mm x 0,5 mm i.d.                   |
| Temperatur<br>des Pyrolysereaktors:      | 1440°C  |
| Wasserseparator:                         | NAFION <sup>TM</sup> (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.                 |
| <b>Isotopen-<br/>massenspektrometer:</b> | Delta <sup>plus</sup> XL (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                           |
| Ionenquelle:                             | beheizt   |
| Ionisierungsenergie                      | 70 eV   |
| Datenaufnahme<br>und Auswertung:         | Isodat, Version 5.4   |

### Bedingungen der Messungen mittels GC-P-IRMS

Die Bedingungen der Messungen entsprechen denen in 5.2.6, wobei als Tertiärstandardmischung folgende Substanzen verwendet wurden: 5-Nonanon, Menthol, *trans*-Anethol und  $\gamma$ -Decalacton.



**Tab. 97.** Retentionszeiten [min] von *trans*-Anethol und Fenchon

| Substanz              | Retentionszeit<br>[min] |
|-----------------------|-------------------------|
| <i>trans</i> -Anethol | 38,6                    |
| Fenchon               | 32,3                    |

**Messdaten**

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$  Werte sind in **Tab. 98.** bis **Tab. 103.** aufgeführt.

**Tab. 98.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlicher *trans*-Anethol-Standards, synthetisch (S) und natürlich (N)

| Probe                    | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|--------------------------|---|
| <i>trans</i> -Anethol S1 | -34                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S2 | -79                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S3 | -42                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S4 | -37                                       |
| <i>trans</i> -Anethol S5 | -20                                       |
| <i>trans</i> -Anethol N1 | -70                                       |
| <i>trans</i> -Anethol N2 | -99                                       |

**Tab. 99.** Einfluss der Wasserdampfdestillation auf den  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Wert [‰] des Standards *trans*-Anethol S1

| Probe   | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|---|---|
| <i>trans</i> -Anethol S1                                | $-34 \pm 3$                               |
| <i>trans</i> -Anethol S1 (nach Wasserdampfdestillation) | $-30 \pm 2$                               |

**Tab. 100.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol und Fenchon aus authentischen Fenchelölen

|       | <i>trans</i> -Anethol                     | Fenchon                                   |
|-------|---|---|
| Probe | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
| FA1   | -74                                       | n.b.                                      |
| FA2   | -84                                       | -226                                      |
| FA3   | -77                                       | n.b.                                      |
| FA4   | -67                                       | -212                                      |
| FA5   | -80                                       | -232                                      |
| FA6   | -73                                       | -205                                      |

**Tab. 101.**  $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol aus authentischen Anisölen

| <i>trans</i> -Anethol |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| Probe                 | $\delta^2 H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| AA1                   | -74                          |
| AA2                   | -74                          |
| AA3                   | -46                          |
| AA4                   | -63                          |

**Tab. 102.**  $\delta^2 H_{V-SMOW}$ -Werte [‰] von *trans*-Anethol aus kommerziellen Fenchelölen

| Probe | <i>trans</i> -Anethol        | Fenchon                      |
|-------|------------------------------|------------------------------|
|       | $\delta^2 H_{V-SMOW}$<br>[‰] | $\delta^2 H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| FK1   | -30                          | n.b.                         |
| FK2   | -90                          | n.b.                         |
| FK3   | -113                         | -218                         |
| FK4   | -82                          | n.b.                         |

**Tab. 103.**  $\delta^2 H_{V-SMOW}$  Werte [‰] von *trans*-Anethol aus kommerziellen Anisölen

| <i>trans</i> -Anethol |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| Probe                 | $\delta^2 H_{V-SMOW}$<br>[‰] |
| AK1                   | -90                          |
| AK2                   | -61                          |
| AK4                   | -93                          |

## 5.4 Authentizität von Kümmelölen

### 5.4.1 Materialien

Bei den Probenmaterialien handelt es sich einerseits um aus Kümmelsamen isolierte ätherische Öle und andererseits um kommerziell erhältliche Kümmelöle.

Samen definierter botanischer Herkunft (*Carum Carvi*) wurden von verschiedenen Anbietern bezogen (vgl. **Tab. 104.**).

**Tab. 104.** Kümmelsamen zur Gewinnung ätherischer Öle

| Probe | Bezeichnung            | Herkunft    | Hersteller/Vertreiber            |
|-------|------------------------|-------------|----------------------------------|
| KA1   | Kümmel Rekord          | Deutschland | N. L. Chrestensen, Erfurt        |
| KA2   | Kümmel                 | Ost-Europa  | Conrad Appel, Darmstadt          |
| KA3   | Kümmel                 | Deutschland | Bornträger & Schlemmer, Offstein |
| KA4   | Niederdeutscher Kümmel | Deutschland | N. L. Chrestensen, Erfurt        |
| KA5   | Kümmel                 | unbekannt   | Sperling & Co, Lüneburg          |

Die kommerziell erhältlichen Öle wurden aus dem Handel erworben oder direkt von Herstellern zur Verfügung gestellt (vgl. **Tab. 105.**).

**Tab. 105.** Kommerziell erhältliche Kümmelöle

| Probe | Bezeichnung          | Herkunft    | Hersteller/Vertreiber        |
|-------|----------------------|-------------|------------------------------|
| KK1   | Kümmelöl             | unbekannt   | Aldrich, Seelze              |
| KK2   | natürliches Kümmelöl | Polen       | Morgentau, St. Johann        |
| KK3   | Kümmelöl, natürlich  | unbekannt   | Caesar & Loretz GmbH, Hilden |
| KK4   | Kümmelöl, natürlich  | unbekannt   | Caesar & Loretz GmbH, Hilden |
| KK5   | Kümmelöl, natürlich  | Ungarn      | Kaders GmbH, Hamburg         |
| KK6   | Kümmelöl, natürlich  | Deutschland | Kaders GmbH, Hamburg         |

Weiterhin wurden kommerziell erhältliche Limonen-Standards untersucht (vgl. **Tab. 106.**).

**Tab. 106.** Kommerziell erhältliche Limonen-Standards

| Probe     |             | Hersteller/Vertreiber |
|-----------|-------------|-----------------------|
| Limonen 1 | (S)-Limonen | Roth, Karlsruhe       |
| Limonen 2 | (R)-Limonen | Fluka, Buchs          |
| Limonen 3 | (S)-Limonen | Aldrich, Seelze       |
| Limonen 4 | (R)-Limonen | Aldrich, Seelze       |
| Limonen 5 | racemisch   | Merck, Darmstadt      |
| Limonen 6 | racemisch   | Roth, Karlsruhe       |

## 5.4.2 Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung erfolgt wie in Kapitel 5.3.2 beschrieben.

## 5.4.3 GC-MS Analyse

Die Identifizierung der einzelnen Inhaltsstoffe der Kümmelöle erfolgte durch den Vergleich der Retentionszeiten und der Massenspektren mit denen von Standardsubstanzen.

Die Bedingungen sind analog zu Kapitel 5.2.3.

**Tab. 107.** Retentionszeiten [min] von Limonen und Carvon

| Substanz | Retentionszeit<br>[min] |
|----------|-------------------------|
| Limonen  | 18,2                    |
| Carvon   | 31,4                    |

### Messdaten

Die nachfolgenden Tabellen (**Tab. 108.**, **Tab. 109.**) zeigen die Ergebnisse der Quantifizierung. Die Quantifizierung wurde über die Berechnung der relativen Flächenprozent vorgenommen.

**Tab. 108.** Zusammensetzung der authentischen Kümmelöle in Flächenprozent [%]

| Probe | Limonen<br>[%] | Carvon<br>[%] |
|-------|----------------|---------------|
| KA1   | 40,0           | 59,6          |
| KA2   | 42,0           | 57,5          |
| KA3   | 46,4           | 53,1          |
| KA4   | 42,5           | 57,2          |
| KA5   | 37,4           | 62,3          |

**Tab. 109.** Zusammensetzung der kommerziellen Kümmelöle in Flächenprozent [%]

| Probe | Limonen<br>[%] | Carvon<br>[%] |
|-------|----------------|---------------|
| KK1   | 43,8           | 55,2          |
| KK2   | 47,7           | 51,3          |
| KK3   | 42,3           | 56,9          |
| KK4   | 40,5           | 57,5          |
| KK5   | 13,0           | 86,5          |
| KK6   | 47,4           | 51,8          |

### 5.4.4 enantio-MDGC-MS Analyse

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse der identifizierten, chiralen Verbindungen der Kümmelöle erfolgte mittels enantioselektiver multidimensionaler Gaschromatographie-Massenspektrometrie (enantio-MDGC-MS).

Die Bedingungen sind analog zu Kapitel 5.3.4.

Die Retentionszeiten sind in **Tab. 110** und **Tab. 111** dargestellt.

**Tab. 110.** Retentions- und Cut-Zeiten [min] (Vorsäule)

| Substanz | Cut-Zeit<br>[min] |
|----------|-------------------|
| Limonen  | 29,3 – 29,5       |
| Carvon   | 48,2 – 48,5       |

**Tab. 111.** Retentionszeiten [min] und Elutionsreihenfolge (Hauptsäule)

| Substanz | Retentionszeit<br>[min] | Elutionsreihenfolge |
|----------|-------------------------|---------------------|
| Limonen  | 53,8/55,4               | (S) vor (R)         |
| Carvon   | 87,6/87,9               | (S) vor (R)         |

#### Messdaten

Die Ergebnisse der enantioselektiven Analyse sind in **Tab. 112.** und **Tab. 113.** aufgeführt.

**Tab. 112.** Enantiomerenverhältnisse [%] der authentischen Kümmelöle

| Probe | Limonen    |            | Carvon     |            |
|-------|------------|------------|------------|------------|
|       | (S)<br>[%] | (R)<br>[%] | (S)<br>[%] | (R)<br>[%] |
| KA1   | < 1        | > 99       | > 99       | < 1        |
| KA2   | < 1        | > 99       | > 99       | < 1        |
| KA3   | < 1        | > 99       | > 99       | < 1        |
| KA4   | < 1        | > 99       | > 99       | < 1        |
| KA5   | < 1        | > 99       | > 99       | < 1        |

**Tab. 113.** Enantiomerenverhältnisse [%] der kommerziellen Kümmelöle

| Probe | Limonen |      | Carvon |     |
|-------|---------|------|--------|-----|
|       | (S)     | (R)  | (S)    | (R) |
|       | [%]     | [%]  | [%]    | [%] |
| KK1   | < 1     | > 99 | > 99   | < 1 |
| KK2   | < 1     | > 99 | > 99   | < 1 |
| KK3   | < 1     | > 99 | > 99   | < 1 |
| KK4   | < 1     | > 99 | 92,0   | 8,0 |
| KK5   | < 1     | > 99 | > 99   | < 1 |
| KK6   | < 1     | > 99 | > 99   | < 1 |

### 5.4.5 GC-C-IRMS Analyse

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>Gaschromatograph:</b>           | Siemens SiChromat 2-8 Doppelofengaschromatograph   |
| Autosampler:                       | A200S (CTC Analytics, Schweiz)   |
| Injektor:                          | Split/Splitless, 240°C   |
| Split:                             | 20 mL/min  |
| Trärgas:                           | Helium, 1,8 mL/min bei 100°C   |
| Trennsäule:                        | Rtx 5, 60 m x 0.25 mm i.d., $d_f = 0.5 \mu\text{m}$ , (Restek, Bad Homburg)  |
| Temperaturprogramm:                | 60°C / 5 min // 5°C/min // 210°C / 15 min  |
| <b>Interface:</b>                  | GC-Combustion-Interface II (ThermoFinnigan MAT, Bremen)  |
| Referenzgas:                       | CO <sub>2</sub> (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,4 bar   |
| Helium:                            | 1,8 bar  |
| Sauerstoff                         | 1,6 bar  |
| Oxidationsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Drähte (Kupfer, Nickel, Platin) mit einer Länge von 240 mm |
| Temperatur des Oxidationsreaktors: | 960°C  |
| Reduktionsreaktor:                 | Keramikrohr (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), 320 mm x 0,5 mm i.d., darin drei Kupferdrähte mit einer Länge von 240 mm                    |
| Temperatur des Reduktionsreaktors: | 600°C  |
| Wasserseparator:                   | NAFION™ (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.   |
| <b>Isotopen-</b>                   |  |
| <b>massenspektrometer:</b>         | Delta S (ThermoFinnigan MAT, Bremen)   |
| Ionenquelle:                       | beheizt  |
| Ionisierungsenergie                | 70 eV  |

Datenaufnahme  
und Auswertung: Isodat V 5.4

### Kalibrierung des Referenzgases:

Die Kalibrierung des Referenzgases erfolgte entsprechend Kapitel 5.2.5, wobei die in **Tab. 114.** aufgeführten Standardsubstanzen verwendet wurden.

**Tab. 114.** Standardsubstanzen zur Kalibrierung des GC-IRMS-Systems

| Substanz             | Lieferant       | Reinheit | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$ Werte |
|----------------------|-----------------|----------|--|
| Limonen              | Fluka, Buchs    | > 99 %   | -31,60                                     |
| Carvon               | Fluka, Buchs    | > 99 %   | -28,20                                     |
| $\gamma$ -Decalacton | Aldrich, Seelze | > 98 %   | -28,54                                     |

**Tab. 115.** Retentionszeiten [min]

| Substanz | Retentionszeit<br>[min] |
|----------|-------------------------|
| Limonen  | 19,5                    |
| Carvon   | 27,4                    |

### Messdaten

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte sind in **Tab. 116.** bis **Tab. 118.** aufgeführt.

**Tab. 116.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Limonen-Standards

| Probe     | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
|-----------|---|
| Limonen 1 | -30,8                                       |
| Limonen 2 | -31,6                                       |
| Limonen 3 | -34,4                                       |
| Limonen 4 | -32,4                                       |
| Limonen 5 | -31,5                                       |
| Limonen 6 | -32,3                                       |

**Tab. 117.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  Werte [‰] von Limonen und Carvon aus authentischen Kümmelölen

| Probe | Limonen                                     | Carvon                                      |
|-------|---|---|
|       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| KA1   | -27,9                                       | -27,9                                       |
| KA2   | -24,7                                       | -24,9                                       |
| KA3   | -29,0                                       | -29,2                                       |
| KA4   | -26,1                                       | -26,2                                       |
| KA5   | -27,2                                       | -26,6                                       |

**Tab. 118.**  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$  [‰] von Limonen und Carvon aus kommerziellen Kümmelölen

| Probe | Limonen                                     | Carvon                                      |
|-------|---|---|
|       | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] | $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$<br>[‰] |
| KK1   | -27,1                                       | -25,2                                       |
| KK2   | -28,3                                       | -26,6                                       |
| KK3   | -26,4                                       | -29,0                                       |
| KK4   | -26,8                                       | -26,6                                       |
| KK5   | -27,9                                       | -26,9                                       |
| KK6   | -28,8                                       | -26,1                                       |

### 5.4.6 GC-P-IRMS Analyse

|   |   |
|---|---|
| <b>Gaschromatograph:</b>                | HP 6890   |
| <b>Autosampler:</b>                     | A200S (CTC Analytics, Schweiz)  |
| <b>Injektor:</b>                        | Split/Splitless, 240°C, Splitless   |
| <b>Trärgas:</b>                         | Helium, Fluss 0,8 mL/min  |
| <b>Trennsäule:</b>                      | VB 5, 30 m x 0,25 mm i.d., $d_f = 0,5 \mu\text{m}$ (ValcoBond, Gig Harbor, USA) |
| <b>Temperaturprogramm:</b>              | 40°C / 15 min // 5°C/min // 240°C   |
| <b>Interface:</b>                       | GC-Combustion-Interface III (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                        |
| <b>Referenzgas:</b>                     | Wasserstoff (Messer-Griesheim, Frankfurt), 1,0 bar                              |
| <b>Helium:</b>                          | 0,8 bar   |
| <b>Pyrolysereaktor:</b>                 | Keramikrohr ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), 320 mm x 0,5 mm i.d.                   |
| <b>Temperatur des Pyrolysereaktors:</b> | 1440°C  |
| <b>Wasserseparator:</b>                 | NAFION <sup>TM</sup> (Permapure, USA), Länge 20 cm, 0,6 mm i.d.                 |
| <b>Isotopen-</b>                        |   |
| <b>massenspektrometer:</b>              | Delta <sup>plus</sup> XL (ThermoFinnigan MAT, Bremen)                           |
| <b>Ionenquelle:</b>                     | beheizt   |
| <b>Ionisierungsenergie</b>              | 70 eV   |
| <b>Datenaufnahme und Auswertung:</b>    | Isodat, Version 5.4   |

### Bedingungen der Messungen mittels GC-P-IRMS

Die Bedingungen der Messungen entsprechen denen in 5.2.6, wobei als Standardmischung folgende Substanzen verwendet wurden: Limonen, Carvon,  $\gamma$ -Decalacton.



**Tab. 119.** Retentionszeiten [min] von Limonen und Carvon

| Substanz | Retentionszeit<br>[min] |
|----------|-------------------------|
| Limonen  | 30,4                    |
| Carvon   | 37,6                    |

**Messdaten**

Die Ergebnisse der Bestimmung der  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte sind in **Tab. 120.** bis **Tab. 123.** aufgeführt.

**Tab. 120.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] der kommerziell erhältlichen Limonen-Standards

| Probe     | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|-----------|---|
| Limonen 1 | -232                                      |
| Limonen 2 | -325                                      |
| Limonen 3 | -252                                      |
| Limonen 4 | -300                                      |
| Limonen 5 | -285                                      |
| Limonen 6 | -288                                      |

**Tab. 121.** Einfluss der Wasserdampfdestillation auf den  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] eines Limonen und eines Carvon-Standards

| Probe                                  | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
|--|---|
| Limonen                                | -232 ± 2                                  |
| Limonen (nach Wasserdampfdestillation) | -227 ± 3                                  |
| Carvon                                 | -201 ± 2                                  |
| Carvon (nach Wasserdampfdestillation)  | -202 ± 2                                  |

**Tab. 122.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] von Limonen und Carvon aus authentischen Kümmelölen

|       | Limonen                                   | Carvon                                    |
|-------|---|---|
| Probe | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
| KA1   | -239                                      | -238                                      |
| KA2   | -227                                      | -221                                      |
| KA3   | -237                                      | -237                                      |
| KA4   | -231                                      | -232                                      |
| KA5   | -225                                      | -227                                      |

**Tab. 123.**  $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$ -Werte [‰] von Limonen und Carvon aus kommerziellen Kümmelölen

| Probe | Limonen                                   | Carvon                                    |
|-------|---|---|
|       | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] | $\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}$<br>[‰] |
| KK1   | -223                                      | -224                                      |
| KK2   | -243                                      | -223                                      |
| KK3   | -240                                      | -249                                      |
| KK4   | -231                                      | -236                                      |
| KK5   | -201                                      | -238                                      |
| KK6   | -234                                      | -262                                      |

## 6 Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> International Organization for Standardization, *ISO 9235: Aromatic natural raw materials – vocabulary*, Genf, ISO, 1997
- <sup>2</sup> K.-D. Protzen: *Produktion und Marktbedeutung ätherischer Öle*, in: R. Carle (Hrsg.): *Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1993
- <sup>3</sup> Europäisches Arzneibuch 2001, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi Verlag – Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn, 2001
- <sup>4</sup> Deutsches Arzneibuch 2001, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi Verlag – Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn, 2001
- <sup>5</sup> R. Angeler, P. Teissiere, *Essential oil of french lavender – its composition and its adulteration*, *Perf. Flav.* **9**, 53-56 (1984)
- <sup>6</sup> A. Mosandl: *Neue Methoden zur herkunftsspezifischen Analyse ätherischer Öle*, in: R. Carle (Hrsg.): *Ätherische Öle – Anspruch und Wirklichkeit*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1993
- <sup>7</sup> A. Dietrich, B. Maas, V. Karl, P. Kreis, D. Lehmann, B. Weber, A. Mosandl, *Stereoisomeric flavor compounds, Part LV: Stereodifferentiation of some chiral volatiles on heptakis-(2,3-di-O-acetyl-6-O-tert.-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin*, *J. High Resolut. Chromatogr.* **14**, 176-179 (1992)
- <sup>8</sup> A. Dietrich, B. Maas, W. Messer, G. Bruche, V. Karl, A. Kaunzinger, A. Mosandl *Stereoisomeric flavor compounds, part LVIII: The use of heptakis-(2,3-di-O-methyl-6-O-tert.-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin as chiral stationary phase in flavor analysis*, *J. High Resolut. Chromatogr.* **15**, 590-593 (1992)
- <sup>9</sup> A. Mosandl, U. Hener, U. Hagenauer-Hener, A. Kustermann, *Direct enantiomer separation of chiral  $\gamma$ -lactones from food and beverages by multidimensional gas chromatography*, *J. High Resolut. Chromatogr.* **12**, 532-536 (1989)
- <sup>10</sup> A. Bernreuther, N. Christoph, P. Schreier, *Determination of the enantiomeric composition of  $\gamma$ -lactones in complex natural matrices using multidimensional capillary gas chromatography*, *J. Chromatogr.* **481**, 363-367 (1989)
- <sup>11</sup> A. F. Hollemann, E. Wiberg: *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, de Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1995
- <sup>12</sup> T. E. Dawson, P. D. Brooks: *Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement*, in: M. Unkovich, J. Pate, A. McNeill, D. J. Gibbs: *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001
- <sup>13</sup> H.-L. Schmidt, A. Roßmann, R. A. Werner: *Stable isotope ratio analysis in quality control of flavourings*, in: E. Ziegler, H. Ziegler (Hrsg.): *Flavourings*, Wiley VCH GmbH, Weinheim, 1998

- <sup>14</sup> W. Nultsch: *Allgemeine Botanik*, 10. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1996
- <sup>15</sup> G. Richter: *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1988
- <sup>16</sup> H.-L. Schmidt, F. J. Winkler, *Einige Ursachen der Variationsbreite von  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten bei  $\text{C}_3$ - und  $\text{C}_4$ -Pflanzen*, Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. **92**, 185-191 (1979)
- <sup>17</sup> F. J. Winkler, H.-L. Schmidt, *Einsatzmöglichkeiten der  $^{13}\text{C}$ -Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung*, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **171**, 85-94 (1980)
- <sup>18</sup> H. W. Krueger, R. H. Reesman, *Carbon isotope analyses in food technology*, Mass Spectrom. Rev. **1**, 205-236 (1982)
- <sup>19</sup> H.-L. Schmidt, *Food quality control and studies on human nutrition by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance isotope ratio determination*, Fresenius Z. Anal. Chem. **324**, 760-766 (1986)
- <sup>20</sup> H.-L. Schmidt, G. Gleixner: *Isotopic patterns in natural compounds origin and importance in authenticity analysis*, in: P. Schreier, M. Herderich, H.-U. Humpf, W. Schwab (Hrsg.): *Natural product analysis*, Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, Wiesbaden, 1998
- <sup>21</sup> G. J. Martin, M. L. Martin, F. Marbon, J. Briscout, *A new method for the identification of the origin of natural products. Quantitative  $^2\text{H}$ -NMR at the natural abundance level applied to the characterization of anetholes*, J. Am. Chem. Soc. **104**, 2658-2659 (1982)
- <sup>22</sup> G. J. Martin, N. Naulet, *Precision, accuracy and referencing of isotope ratios determined by nuclear magnetic resonance*, Fresenius Z. Anal. Chem. **332**, 648-651 (1988)
- <sup>23</sup> J. T. Brenna, T. N. Corso, H. J. Tobias, R. J. Caimi: *High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry*, in: H. Griffiths (Hrsg.): *Stable isotopes in integration of biological, ecological and geochemical processes*, BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, 1998
- <sup>24</sup> S. J. Prosser, C. M. Scrimgeour, *High-precision determination of  $^2\text{H}/^1\text{H}$  in  $\text{H}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}$  by continuous-flow isotope ratio mass spectrometry*, Anal. Chem. **67**, 1992-1997 (1995)
- <sup>25</sup> H. J. Tobias, J. T. Brenna, *High-precision D/H measurement from organic mixtures by gas chromatography continuous-flow isotope ratio mass spectrometry using a palladium filter*, Anal. Chem. **68**, 3002-3007 (1996)
- <sup>26</sup> A. W. Hilkert, C. B. Douthitt, H. J. Schlüter, W. A. Brand, *Isotope ratio monitoring gas chromatography/mass spectrometry of D/H by high temperature conversion isotope ratio mass spectrometry*, Rapid Commun. Mass Spectrom. **13**, 1226-1230 (1999)

- <sup>27</sup> A. L. Sessions, T. W. Burgoyne, J. M. Hayes, *Determination of the  $H_3$  factor in hydrogen isotope ratio monitoring mass spectrometry*, Anal. Chem. **73** (2), 200-207 (2001)
- <sup>28</sup> R. A. Werner, W. A. Brand, *Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis*, Rapid Commun. Mass Spectrom. **15**, 501-519 (2001)
- <sup>29</sup> H. Craig, *Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide*, Geochim. Cosmochim. Acta **12**, 133-149 (1957)
- <sup>30</sup> J. Hoefs: *Stable isotope geochemistry*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997
- <sup>31</sup> R. Schmidt, L. Thiedecke, *Gas aktuell – Berichte aus Forschung und Technik*, Nr. 49, Messer Griesheim, 4-8 (1995)
- <sup>32</sup> Reference Materials Catalogue 2000-2001, Analytical Quality Control Services, IAEA, Wien, 2000
- <sup>33</sup> W. Meier-Augenstein, *The chromatographic side of isotope ratio mass spectrometry: Pitfalls and answers*, LC-GC **10**, 17-25 (1997)
- <sup>34</sup> W. Meier-Augenstein, *A reference gas inlet module for internal isotopic calibration in high precision gas chromatography/combustion-isotope ratio mass spectrometry*, Rapid Commun. Mass Spectrom. **11**, 1775-1780 (1997)
- <sup>35</sup> T. W. Burgoyne, J. M. Hayes, *Quantitative production of  $H_2$  by pyrolysis of gas chromatographic effluents*, Anal. Chem. **70**, 5136-5141 (1998)
- <sup>36</sup> C. Ruff, K. Hör, B. Weckerle, P. Schreier,  *$^2H/^1H$  Ratio analysis of flavor compounds by on-line gas chromatography pyrolysis isotope ratio mass spectrometry (HRGC-P-IRMS): Benzaldehyd*, J. High Resol. Chromatogr. **23**, 357-359 (2000)
- <sup>37</sup> L. Roth, K. Kormann: *Duftpflanzen, Pflanzendüfte: ätherische Öle und Riechstoffe*, Ecomed Verlagsgesellschaft AG & Co. KG, Landsberg, 1997
- <sup>38</sup> P. Thessiere, in: P. Sandra, C. Bicchi (Hrsg.), *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*, Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, Basel, New York, 1987
- <sup>39</sup> K. Hartke, H. Hartke, E. Mutschler, G. Rücker, M. Wichtl (Hrsg.): *Kommentar zum Europäischen Arzneibuch*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Govi Verlag GmbH Eschborn, 1998
- <sup>40</sup> A. Mosandl, V. Schubert, *Stereoisomere Aromastoffe XXXIX. Chirale Inhaltsstoffe ätherischer Öle (I) Stereodifferenzierung des Linalylacetats – ein neuer Weg zur Qualitätsbeurteilung des Lavendelöls*, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **190**, 506-510 (1990)
- <sup>41</sup> P. Kreis, A. Mosandl, *Chiral compounds of essential oils. Part XI. Simultaneous stereoanalysis of Lavandula oils constituents*, Flav. Fragr. J. **7**, 187-193 (1992)
- <sup>42</sup> P. Kreis, A. Dietrich, D. Juchelka, A. Mosandl, *Methodenvergleich zur Stereodifferenzierung von Linalool und Linalylacetat in ätherischen Ölen von Lavandula angustifolia MILLER*, Pharm. Ztg. Wiss. **138**, 149-155 (1993)

- <sup>43</sup> R. A. Culp, J. E. Noakes, *Determination of synthetic components in flavors by deuterium/hydrogen isotopic ratios*, J. Agric. Food Chem. **40**, 1892-1897 (1992)
- <sup>44</sup> U. Hener, P. Braunsdorf, A. Dietrich, B. Maas, E. Euler, B. Schlag, A. Mosandl, *Chiral compounds of essential oils. X: The role of linalool in the origin evaluation of essential oils*, Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. **14**, 129-133 (1992)
- <sup>45</sup> S. Hanneguelle, J.-N. Thibault, N. Naulet, G. J. Martin, *Authentication of essential oils containing linalool and linalyl acetate by isotopic methods*, J. Agric. Food Chem. **40**, 81-87 (1992)
- <sup>46</sup> P. Kreis: *Authentizitätsbestimmung ätherischer Öle mittels enantioselektiver Kapillargaschromatographie*, Dissertation, Frankfurt am Main, 1994
- <sup>47</sup> U. Ravid, E. Putievsky, I. Katzir, *Chiral GC analysis of enantiomerically pure fenchon in essential oils*, Flavour Fragr. J. **7**, 169-172 (1992)
- <sup>48</sup> K. Bauer, D. Garbe, H. Surburg: *Common fragrance and flavor materials*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1990
- <sup>49</sup> S. Faulhaber: *Isotopenmassenspektrometrie und enantioselektive Analyse zur Authentizitätskontrolle ätherischer Öle*, Dissertation, Frankfurt am Main, 1998
- <sup>50</sup> H. J. Bouwmeester, J. Gershenzon, M. Konings, R. Croteau, *Biosynthesis of the monoterpenes limonene und carvone in the fruit of caraway*, Plant Physiol. **117**, 901-912 (1998)
- <sup>51</sup> R. Croteau, F. Karp: *Origin of natural odorants*, in: P. M. Müller, C. Lamparsky (Hrsg.): *Perfumes – art, science, technology*, Elsevier Publishers LTD, 1991
- <sup>52</sup> U. Ravid, E. Putievsky, I. Katzir, *Chiral GC analysis of (S)(+)- and (R)(-)-carvon with high enantiomeric purity in caraway, dill and spearmint oils*, Flav. Fragr. J. **7**, 289-292 (1992)
- <sup>53</sup> H. J., Bouwmeester, J. A. R. Davies, H. Toxopeus, *Enantiomeric composition of carvone, limonene and carveol in seeds of dill and annual and biennial caraway varieties*, J. Agric. Food Chem. **43**, 3057-3064 (1995)
- <sup>54</sup> H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer: *Dünnschichtchromatographie: Reagenzien und Nachweismethoden, Band 1a*, 1. Auflage, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1989
- <sup>55</sup> Deutsches Arzneibuch 1997, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi Verlag – Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn, 2001

## Publikationen, Patente und Tagungsbeträge

### Publikationen

S. Bilke, A. Mosandl, Enantioselective analysis of 2-methyl-4-(2,2,3-trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-but-2-enol, 2-methyl-4-(2,2,3-trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-but-2-enal,  $\alpha$ -campholene aldehyde by capillary gas chromatography, J. Sep. Sci. **24**, 819-822 (2001)

S. Bilke, A. Mosandl, Measurements by gas chromatography/pyrolysis/mass spectrometry: fundamental conditions in  $^2\text{H}/^1\text{H}$  isotope ratio analysis, Rapid Commun. Mass Spectrom. **16**, 468-472 (2002)

S. Bilke, A. Mosandl, Authenticity assessment of lavender oils using GC-P-IRMS:  $^2\text{H}/^1\text{H}$  ratios of linalool and linalyl acetate, Eur. Food Res. Technol., im Druck

S. Bilke, A. Mosandl,  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratios of trans-anethole using GC-P-IRMS, im Druck

M. Kreck, A. Scharrer, S. Bilke, A. Mosandl, Stir bar sorptive extraction (SBSE)-enantio-MDGC-MS – a rapid method for the enantioselective analysis of chiral flavor compounds in strawberries, Eur. Food Res. Technol. **213**, 389-394 (2001)

M. Kreck, A. Scharrer, S. Bilke, A. Mosandl, Enantioselective analysis of monoterpene compounds in essential oils by stir bar sorptive extraction (SBSE)-enantio-MDGC-MS, Flavour Fragr. J. **17**, 32-40 (2002)

### Patente

in Zusammenarbeit mit der Cognis Deutschland GmbH

„Verfahren zur Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses von Trimethylcyclopenten-Derivaten“, eingereicht

### Tagungsbeiträge

S. Bilke, A. Mosandl, Enantioselective Kappilar-GC – eine neue Betrachtungsweise für Sandelholzriechstoffe, Symposium Lebensmittel – Mittel zum Leben, Münster, 2002

## Lebenslauf

Stefanie Bilke  
geboren am 01.05.1973 in Recklinghausen  
ledig

### **Schulbildung**

|             |   |
|-------------|---|
| 1979 – 1983 | Katholische Grundschule, Haltern-Flaesheim    |
| 1983 – 1989 | Städtische Realschule, Haltern                |
| 1989 – 1992 | Herwig-Blankertz-Kollegschule, Recklinghausen |
| Juni 1992   | Allgemeine Hochschulreife                     |

### **Studium**

|                |  |
|----------------|--|
| 1992 – 1993    | Westfälische Wilhelms-Universität Münster<br>Studiengang Diplom-Chemie             |
| 1993 – 1997    | Bergische Universität Gesamthochschule Wuppertal<br>Studiengang Lebensmittelchemie |
| September 1995 | Vordiplom Chemie   |
| November 1997  | Erste staatliche Prüfung für Lebensmittelchemiker                                  |

### **Praktisches Jahr**

|                          |   |
|--------------------------|---|
| März – Mai 1998          | Herta GmbH, Herten  |
| Juni – Juli 1998         | Lebensmittelüberwachungsamt, Bochum   |
| August 1998 – April 1999 | Gemeinsames Chemisches und Lebensmittelunter-<br>suchungsamt für den Kreis Recklinghausen und die<br>Stadt Gelsenkirchen in der Emscher-Lippe-Region,<br>Recklinghausen |
| April 1999               | Zweite staatliche Prüfung für Lebensmittelchemiker  |

### **Promotion**

|                |  |
|----------------|--|
| seit Juni 1999 | Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für<br>Lebensmittelchemie, Johann Wolfgang Goethe-<br>Universität Frankfurt am Main im Arbeitskreis von Herrn<br>Prof. Dr. Armin Mosandl |
|----------------|--|